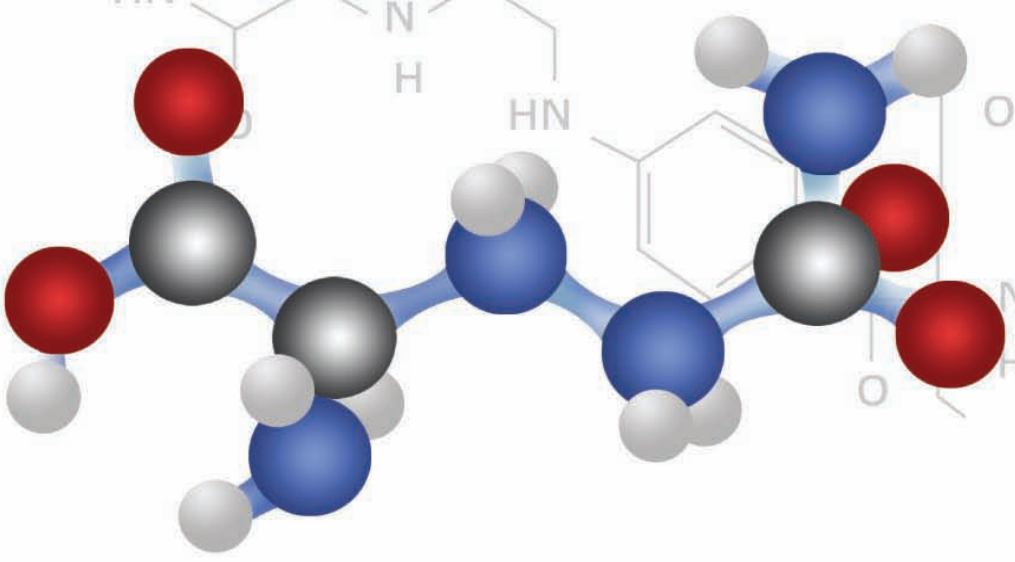
Laboratorio clínico y nutrición

María Teresa González Martínez



Manual Moderno®

Laboratorio clínico y nutrición

EL LIBRO MUERE CUANDO LO FOTOCOPIA

AMIGO LECTOR:

La obra que usted tiene en sus manos posee un gran valor.
En ella, su autor ha vertido conocimientos, experiencia y mucho trabajo. El editor ha procurado una presentación digna de su contenido y está poniendo todo su empeño y recursos para que sea ampliamente difundida, a través de su red de comercialización.

Al fotocopiar este libro, el autor y el editor dejan de percibir lo que corresponde a la inversión que ha realizado y se desalienta la creación de nuevas obras. Rechace cualquier ejemplar "pirata" o fotocopia ilegal de este libro, pues de lo contrario estará contribuyendo al lucro de quienes se aprovechan ilegítimamente del esfuerzo del autor y del editor.

La reproducción no autorizada de obras protegidas por el derecho de autor no sólo es un delito, sino que atenta contra la creatividad y la difusión de la cultura.

Para mayor información comuníquese con nosotros:

Manual Moderno®

Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V.
Av. Sonora 206, Col. Hipódromo, 06100
México, D.F.

Editorial El Manual Moderno (Colombia), Ltda
Carrera 12-A No. 79-03/05
Bogotá, D.C.

CeMPro
Centro Mexicano de Protección y Fomento a los Derechos de Autor
Sociedad de Gestión Colectiva

LABORATORIO CLÍNICO Y NUTRICIÓN

MC. MARÍA TERESA GONZÁLEZ MARTÍNEZ
Químico Clínico Biólogo, Facultad de Medicina, UANL
Maestría en Enseñanza, Facultad de Química, UANL
Maestría en Ciencias de los Alimentos,
Universidad Autónoma de Barcelona.
Coordinadora Académica del Área Básica,
Facultad de Salud Pública y Nutrición, UANL

Editor Responsable:
Dr. Martín Martínez Moreno
Editorial El Manual Moderno

Manual Moderno®

Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.
Av. Sonora 206 - 201 Col. Hipódromo, C.P. 06100 México, D.F.

Editorial El Manual Moderno, (Colombia), Ltda
Carrera 12-A No. 79-03/05 Bogotá, DC

**Nos interesa su opinión,
comuníquese con nosotros:**

Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.
Av. Sonora núm. 206,
Col. Hipódromo,
Deleg. Cuauhtémoc,
06100 México, D.F.

(52-55)52-65-11-00

info@manualmoderno.com
quejas@manualmoderno.com

IMPORTANTE

Los autores y la Editorial de esta obra han tenido el cuidado de comprobar que las dosis y esquemas terapéuticos sean correctos y compatibles con los estándares de aceptación general en la fecha de la publicación. Sin embargo, es difícil estar por completo seguro que toda la información proporcionada es totalmente adecuada en todas las circunstancias. Se aconseja al lector consultar cuidadosamente el material de instrucciones e información incluido en el inserto del empaque de cada agente o fármaco terapéutico antes de administrarlo. Es importante, en especial, cuando se utilizan medicamentos nuevos o de uso poco frecuente. La Editorial no se responsabiliza por cualquier alteración, pérdida o daño que pudiera ocurrir como consecuencia, directa o indirecta, por el uso y aplicación de cualquier parte del contenido de la presente obra.

Laboratorio clínico y nutrición
D.R. © 2012 por Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.
ISBN: 978-607-448-211-9
ISBN: 978-607-448-213-3 versión electrónica

Miembro de la Cámara Nacional
de la Industria Editorial Mexicana, Reg. núm. 39

Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, almacenada en sistema alguno de tarjetas perforadas o transmitida por otro medio —electrónico, mecánico, fotocopiador, registrador, etcétera— sin permiso previo por escrito de la Editorial.

Para mayor información en:
• Catálogo del producto
• Novedades
• Distribuciones y más
www.manualmoderno.com

Manual Moderno®
es marca registrada de
Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.

González Martínez, María Teresa
Laboratorio clínico y nutrición / María Teresa González Martínez.
-- México : Editorial El Manual Moderno, 2012.
xii, 196 páginas : ilustraciones ; 23 cm.
Disponible en formato electrónico
Incluye índice
ISBN 978-607-448-211-9
ISBN 978-607-448-213-3 (versión electrónica)

1. Diagnóstico de laboratorio. 2. Bioquímica clínica – Manuales de Laboratorio. 3. Nutrición – Manuales de laboratorio. 4. Metabolismo – Manuales de laboratorio. I. título.

616.0756-scdd21 Biblioteca Nacional de México

Director editorial y de producción:
Dr. José Luis Morales Saavedra

Editora asociada:
LCC Tania Uriza Gómez

Diseño de portada:
LDG Elena Frausto Sánchez

Contenido

Agradecimientos ..... **IX**

Presentación ..... **XI**

Capítulo 1. Introducción a la bioquímica clínica **1**
Unidades de medición 1
Sistema Internacional de Unidades (SI) 2
Materiales para laboratorio 3
Calidad analítica en el laboratorio clínico 6

Capítulo 2. Instrumentos utilizados en el laboratorio clínico **11**
Espectofotómetro 11
Electroforesis 21

Capítulo 3. Recolección y manejo de muestras de sangre y orina **29**
Plasma y sangre completa 30
Obtención de sangre completa o plasma 30
Anticoagulantes 30
Obtención de suero 32
Recipiente de recolección 32
Recolección de muestras de orina 34

Capítulo 4. Introducción a la hematología.....37
Hematopoyesis.....37
Sistema hematopoyético 38
Catabolismo de la hemoglobina.....43
Medición de bilirrubina.....46
Anemia 47
Leucopoyesis 50
Granulocitos neutrófilos (PMN) 51
Granulocitos eosinófilos.....52
Basófilos y mastocitos.....53
Monocitos y macrófagos.....54
Linfocitos.....54
Plaquetas o trombocitos 57

Capítulo 5. Indicadores hematológicos 63
Serie roja 63
Índices eritrocitarios 64
Indicadores de hierro 67
Indicadores de inmunidad 71
Reacción de hipersensibilidad cutánea retardada.....71

Capítulo 6. Proteínas 75
Proteínas plasmáticas (PT) 75
Mediciones de proteínas totales en suero (PT).....76
Indicadores de proteína visceral.....77
Proteínas de fase aguda positiva 81
Indicadores de proteína somática.....84

Capítulo 7. Evaluación de la función renal 89
Urea 89
Creatinina 92
Métodos de laboratorio.....93
Depuración de creatinina.....93

Capítulo 8. Lípidos 95
Colesterol 95
Triglicéridos (triacilglicerol) 95
Fosfolípidos 96
Ácidos grasos no esterificados 96
Ácidos grasos libres (AGL) 102
Perfil de lípidos 104

Capítulo 9. Pruebas diagnósticas y de control del paciente diabético 107
Metabolismo de los carbohidratos 107
Prueba para diagnóstico de diabetes 110
Pruebas de control del paciente diabético 114
Fructosamina 115
Microalbuminuria (microproteinuria) 115
Glucosuria 116

Capítulo 10. Enzimas de interés clínico 119
Enzimología clínica 119
Medición de la actividad enzimática 121

Capítulo 11. Minerales y vitaminas 139
Minerales 139
Vitaminas 146

Capítulo 12. Estudio básico de orina 165
Funcionamiento del riñón 165

Referencias 179

Anexos 181

Índice 189

Agradecimientos

A las autoridades de la Universidad Autónoma de Nuevo León y de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, por su apoyo para la elaboración del presente libro.

A todas las personas que participaron en la revisión, captura de textos y diseño de las páginas de este documento.

A las LN Cynthia Gucciardo Guerra, María Elena de Jesús Garza Badillo y Angélica Sagrario Chávez Covarrubias, por su apoyo en la edición y corrección del manuscrito.

Presentación

El objetivo de este libro es ofrecer material de apoyo a los estudiantes de la licenciatura en Nutrición, en el área de nutrición clínica. En este texto los estudiantes podrán encontrar información acerca de los fundamentos de bioquímica clínica.

El libro está dividido en 12 capítulos. En el primer apartado se encuentran las bases de la bioquímica clínica, tales como las unidades de laboratorio clínico en que se reportan los estudios de los diversos líquidos biológicos y la transferencia de unidades de medición del sistema convencional al Sistema Internacional de Unidades (SI). En los dos capítulos siguientes se abordan los métodos y las técnicas más actualizadas que se aplican en el laboratorio clínico. Los nueve capítulos restantes se refieren a los indicadores hematológicos y bioquímicos más empleados por el nutriólogo en la elaboración del diagnóstico nutriológico del individuo sano en las diferentes etapas de la vida, incluyendo la interpretación del estudio básico de orina.

Asimismo, se presentan los indicadores hematológicos y bioquímicos utilizados en el diagnóstico y seguimiento de las patologías más frecuentes en nuestro país, tales como la ateroesclerosis, la diabetes mellitus y la desnutrición.

Al final de cada capítulo el lector hallará una serie de ejercicios como apoyo para su aprendizaje y conozca sus avances sobre cada tema. Además, el texto ha sido reforzado con tablas de valores bioquímicos de referencia de las diferentes etapas de la vida, a fin de que sirvan al lector como consulta en la evaluación del estado nutricio.

De manera paralela a los avances científicos y tecnológicos en el manejo, procesamiento, análisis e interpretación de datos en la atención del nutriólogo, surge una mayor preocupación académica por desarrollar los valores de veracidad, precisión, certeza, honestidad y responsabilidad profesional. En ese orden de ideas, la presente obra pretende constituirse en una aportación encaminada a nutrir dichos valores.

Ma. Teresa González Martínez
PTC-FaSPyN-UANL

Capítulo 1

Introducción a la bioquímica clínica

UNIDADES DE MEDICIÓN

El Sistema Métrico Decimal es el más utilizado por el laboratorio clínico para expresar la concentración de metabolitos o electrólitos medidos en suero o plasma humano. Este sistema se denomina MKS debido a que sus unidades son el metro, el kilogramo y el segundo. Actualmente se utiliza el Sistema Internacional de Unidades (SI). En el cuadro 1-1 se describen las unidades básicas del SI.

Cuadro 1-1. Unidades básicas del SI

Magnitud	Unidad SI	Símbolo
Longitud	metro	m
Masa	kilogramo	kg
Tiempo	segundo	s
Corriente eléctrica	amperio	A
Temperatura	kelvin	K
Intensidad luminosa	candela	cd
Cantidad de sustancia	mol	mol

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

SISTEMA INTERNACIONAL DE UNIDADES (SI)

El Comité Internacional de Pesas y Medidas aceptó el Sistema Internacional de Unidades (SI) más tarde la Organización Mundial de la Salud en 1977 recomendó la adopción de este sistema. La comunidad científica y, sobre todo, la comunidad médica de numerosos países han adoptado y utilizado estas unidades en todas sus publicaciones científicas. Este sistema tiene dos clases de unidades: básicas y derivadas.

Múltiplos y submúltiplos en el SI

Algunas unidades básicas del SI pueden tener distintos múltiplos y submúltiplos, cada uno de ellos con un nombre característico que se forma mediante la unión de un prefijo al nombre básico de la unidad. Los prefijos más utilizados en el SI de múltiplos y submúltiplos se mencionan en cuadro 1-2.

Dos o más unidades básicas pueden ser combinadas por multiplicación o división para formar las unidades derivadas del SI.

En el Sistema Internacional (SI) la concentración de sustancia es expresada en moles/Litro (mol/L).

Formas de expresar concentración

La mayoría de las sustancias bioquímicas se expresan ahora en términos de peso por unidad de volumen. Una expresión común de la concentración en unidades convencionales es la de miligramos por decilitro (mg/dL, mg/% o mg/100 mL), cuya forma encontramos en los reportes de laboratorio clínico.

Otra expresión de la concentración en unidades del SI son los moles o milimoles por litro (mmol/L), que es una forma más precisa para expresar la concentración de sustancia y la cual se utiliza comúnmente en publicaciones científicas o libros de texto.

Cuadro 1-2. Unidades más utilizadas del Sistema Internacional

Fracción	Prefijo	Símbolo
10^{-1}	deci	d
10^{-2}	centi	c
10^{-3}	mili	m
10^{-6}	micro	µ
10^{-9}	nano	n
10^{-12}	femto	f
10^{-15}	pico	p

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Para convertir los valores de mg/L a mmol/L, se debe multiplicar éstos por el factor de conversión, de acuerdo con el indicador bioquímico:

- Colesterol total: 0.02586
- Triglicéridos: 0.01129
- Glucosa: 0.055
- Nitrógeno de la urea: 0.357
- Ácido úrico: 88.4
- Creatinina: 59.48
- Proteínas totales: 10
- Albúmina: 10
- Para convertir los valores de mmol/L a mg/dL, debe dividirse éstos entre el mismo factor de conversión en cada caso.

Electrólitos

En el Sistema Internacional de Unidades, los cationes o aniones presentes en el plasma (como Na^+, K^+, Cl^- o Ca^{++}) se reportan en mmol/L .

Enzimas

Para expresar la actividad enzimática, el SI ha recomendado al **Katal,** que se define como la cantidad de enzima que cataliza la trasformación de 1 mol de sustrato por segundo en un sistema analítico.

MATERIALES PARA LABORATORIO

En el laboratorio clínico pueden encontrarse distintos tipos de materiales, tales como vidrio, plástico y porcelana, entre otros.

Vidrio

Este material se caracteriza por su gran resistencia química frente al agua, ácidos y bases, así como por su estabilidad y transparencia. Existe gran variedad de vidrios con diferentes propiedades. La mayoría de los utensilios para laboratorio están fabricados en vidrio de borosilicato relativamente inerte (96% silicato) y se caracterizan por un elevado grado de resistencia térmica. El vidrio de borosilicato tiene baja concentración de alcalinotérreos y está libre de contaminantes tales como los metales pesados. Este tipo de vidrio puede calentarse a unos 600°C y se ablanda sólo hasta 820°C aproximadamente. Las marcas comerciales de este tipo de vidrio son Pirex, Kimax y Vycor. Otro tipo de vidrio es el silicato de aluminio, que es seis a diez veces más resistente que el vidrio de borosilicato convencional y altamente resistente a rajaduras y erosión alcalina. La marca comercial más conocida de artefactos hechos de este material es Corex.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Plástico

Los utensilios de plástico pueden ser de uso múltiple, como probetas, matraces o vasos de precipitado, o como material de desecho, tales como puntas de pipeta, placas de petri o cubetas de espectrofotómetros.

Los utensilios de plástico usados en el laboratorio están hechos de monómeros orgánicos polimerizados, con distintas propiedades físicas y químicas. Las poliolefinas (formadas por polietileno o polipropileno) son notables por su fuerza y resistencia a altas temperaturas. La ventaja del plástico frente al vidrio son su resistencia a roturas y a la esterilización en laboratorio, así como su ligereza.

Cuando se emplean utensilios de plástico debe tenerse presente el tipo de material del que están hechos, ya que muchos de ellos pueden ser atacados por disolventes orgánicos y ácidos o bases fuertes y algunos de ellos no soportan temperaturas elevadas.

Porcelana

Este material es utilizado con menor frecuencia que los anteriores en el laboratorio clínico. Sin embargo, resiste altas temperaturas y los artefactos elaborados con él están vidriados totalmente o en su parte interna para evitar la adherencia de partículas en sus paredes.

Material volumétrico

Se utiliza para las mediciones y transferencias exactas de volumen, las cuales son técnicas básicas en los análisis de laboratorio. Estas mediciones se realizan mediante matraces volumétricos, pipetas, buretas, probetas y dispensadores, entre otros.

La Oficina Nacional de Patrones (ONP) establece los límites de tolerancia o máximos errores permitidos clasificándolos de la siguiente manera: “Clase A” los que se certifican por exactitud y los “Clase B”, que son menos exactos pero igualmente precisos. En el laboratorio clínico se utiliza la “Clase A”.

Todo el material volumétrico está calibrado para ser utilizado de forma determinada y a una temperatura estándar, la cual en promedio es de 20°C (el volumen ocupado por una determinada masa de líquido varía con la temperatura).

Existen diferentes instrumentos volumétricos con distintos tipos de calibración.

Los instrumentos calibrados para verter, como las pipetas y las buretas, ostentan las siguientes siglas:

- vert¨
- ¨ex¨
- ¨td

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Al realizar la calibración de este material se ha tomado en cuenta la cantidad de líquido que permanece adherido a la pared del vidrio debido a la humectación.

Los instrumentos calibrados para contener, como los matraces aforados, no suministran el volumen correspondiente, porque una cantidad de líquido permanece adherida a la pared del vidrio. Este tipo de material suele ostentar las leyendas "cont", "IN", "TC". En este tipo de material es importante tomar en cuenta el error de paralelaje ya que la superficie de un líquido contenido en un tubo estrecho (pipeta, bureta) presenta una marcada curvatura o menisco.

La lectura del menisco debe realizarse de la siguiente manera:

1. En las soluciones transparentes se lee la parte inferior del menisco.
2. En las soluciones coloreadas se lee la parte superior de la columna líquida.
3. Al medir mercurio, se lee la parte superior del menisco.

Matraces aforados

Estos utensilios se utilizan principalmente en la preparación de disoluciones valoradas o de concentración conocida y para diluir muestras hasta un volumen fijo.

Los más comunes tienen capacidades de 25, 50, 250, 500 y 1 000 mL y están calibrados para contener el volumen del líquido especificado a 20°C cuando están llenos del fondo al menisco de calibración (figura 1-1).

Pipetas

Estos instrumentos se utilizan para transferir un volumen determinado de líquido. En sus paredes se hallan grabadas la capacidad y la temperatura a la que deben utilizarse; presentan bandas de color en la parte superior como código para el volumen, precisión y tiempo de espera.

Existen diferentes tipos de pipetas, aplicables a diversas funciones. Entre éstas pueden citarse:

Pipetas aforadas (volumétricas). Diseñadas para medir un solo volumen de líquido y con una sola línea de aforo. Son las más exactas de su tipo.

Pipetas graduadas. El volumen total de su capacidad totales divide en mililitros y en décimas o centésimas de mililitro.

La primera regla para el uso de las pipetas manuales es que nada debe aspirarse dentro de la pipeta por la boca, sino que debe emplearse un bulbo de goma u otro elemento para llenar la pipeta.

Figura 1-1. Matraz de aforación aforado.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Figura 1-2. Micropipetas.

Micropipetas

Como indica su nombre, son instrumentos utilizados para transferir cantidades muy pequeñas de líquidos; por lo general contienen cantidades comprendidas entre 1 y 500 microlitros. En la actualidad las pipetas más populares son las micropipetas automáticas, llamadas también micropipetas tipo Eppendorf. Éstas funcionan mediante un pistón y poseen puntas desechables de plástico para evitar la contaminación. Las hay de volumen fijo y de volumen variable y algunas de ellas tienen un dispositivo acoplado para expulsar la punta de plástico una vez que ha sido utilizada (figura 1-2).

Buretas

Estos artefactos se utilizan principalmente en la valoración de disoluciones de concentración desconocidas y en los métodos volumétricos.

Las buretas son dosificadores que se emplean para realizar adiciones controladas de un líquido y que permiten medir el volumen dosificado. Se utilizan para medir volúmenes que requieren poca precisión y del tipo dispensador (TD) (figura 1-3).

Figura 1-3. Dispensad or.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Dispensadores automáticos

Su uso es muy frecuente en el laboratorio y sirven para agregar repetidamente un determinado volumen de un reactivo o diluyente a una solución. Los dispensadores están constituidos por un émbolo, un sistema de válvula y un extremo para dispensar el líquido.

CALIDAD ANALÍTICA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Las características de un método de laboratorio deben cumplir con los siguientes parámetros de funcionamiento analítico:

- Exactitud, precisión.
- Sensibilidad analítica.
- Especificidad analítica.
- Recuperación, interferencias.
- Intervalo de linealidad.

Características analíticas

Toda medida cuantitativa es afectada por diversos factores que la desvían de su valor verdadero. Las principales causas de variabilidad analítica se deben a errores sistemáticos y aleatorios.

Los errores sistemáticos se dividen en cuatro categorías:

- Errores de muestreo.
- Errores de método.
- Errores de medida.
- Errores humanos.

Los errores de muestreo son los que ocurren durante la obtención de la muestra. Los errores de método se deben a las limitaciones propias de éste. Los errores de medida son causados por las limitaciones del equipo y de los instrumentos utilizados para realizarla. Los errores humanos son imputables al personal a cargo del análisis.

Los errores sistemáticos cambian la posición de la media con un sesgo que puede ser positivo o negativo y afectan la variabilidad de los resultados.

Los errores aleatorios se deben a lecturas incorrectas de los instrumentos, cálculos equivocados, cambio de las muestras y uso incorrecto de reactivos o de estándares aplicados erróneamente. Estos errores aumentan la variabilidad de los resultados y afectan de manera leve a la media.

Precisión analítica

Durante las evaluaciones de un método deben mantenerse constantes tantos factores como sea posible (por ejemplo, usar el mismo lote de reactivos, los mismos estándares y que intervenga el mismo personal de laboratorio).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Exactitud analítica

Este factor es una medida de la concordancia entre el valor obtenido para una determinación y el valor real (figura 1-4). Una forma de evaluar la inexactitud analítica de un método es utilizar materiales control con valores asignados, obtenidos mediante métodos de referencia. En el mercado existen controles comerciales valorados tales como sueros y plasma humano con valores de referencia, entre otros.

Es importante considerar que el control (preparado comercial) puede ser igual al producto biológico que habrá de analizarse. Por ejemplo, si el método se realizará en suero, el control debe ser un suero humano.

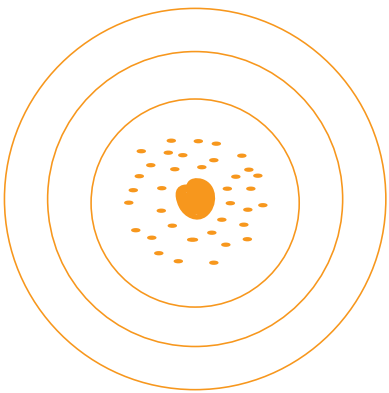
Asimismo, deben seleccionarse tres materiales de control con tres valores de concentración: bajo, normal y elevado. Así, si es para un método de glucosa, se utilizan valores como 50, 100 y 150 mg/dL. A continuación se analiza cada material por triplicado y, una vez obtenidos los resultados, se calcula el valor medio y se compara con el valor asignado.

Sensibilidad y límite de detección analíticos

La sensibilidad analítica es una manera de establecer la capacidad de un método para detectar pequeñas concentraciones de una sustancia que se analiza. El límite de detección se define como el resultado más pequeño que puede diferenciarse de un blanco adecuado, con una probabilidad de 95%. Este límite marca el punto a partir del cual puede realizarse el análisis.

Linealidad e intervalo analítico

El intervalo de linealidad determina el analítico, que se define como el intervalo de concentración, o de la magnitud que se mide, en el que existe una relación



Preciso y exacto

Figura 1- 4. Representación de exactitud y precisión.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

lineal entre el valor real y el obtenido con el método, de forma que éste puede aplicarse sin modificación. El intervalo de linealidad del método debe ser suficientemente amplio para incluir la mayoría de los valores que se obtienen en las muestras de rutina. La linealidad del método se asume en los métodos que emplean calibraciones a uno o dos puntos, al menos entre el origen y el punto superior de calibración y esta linealidad se extrapola generalmente a un valor de concentración especificado por el fabricante del reactivo (figura 1-5).

Recuperación

La recuperación demuestra la capacidad para medir una sustancia pura cuando se añade una cantidad de ésta a uno de los especímenes que se analiza de manera rutinaria.

Especificidad e interferencias analíticas

La especificidad de un método representa su capacidad para medir únicamente el componente o los componentes que pretendan medirse. Las interferencias se refieren a la influencia que ejercen determinadas sustancias, que por sí mismas no producen lecturas, sobre la exactitud de un método para determinar otra sustancia (por ejemplo, ácido ascórbico para la medición de glucosa urinaria). La interferencia puede dar lugar a valores más bajos o más altos de la sustancia que se analiza.

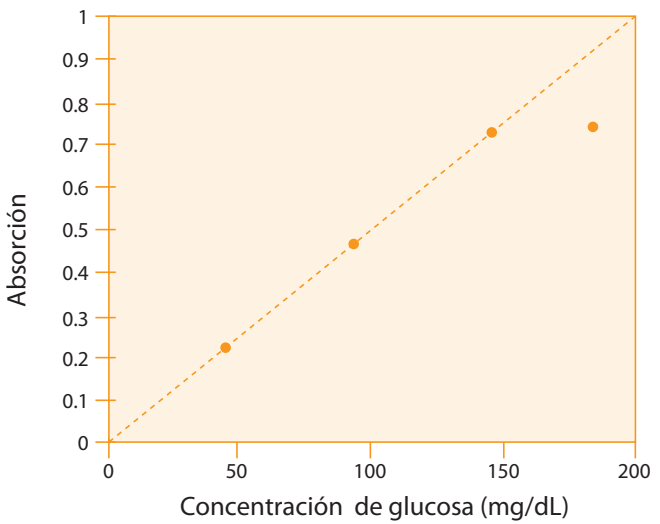


Figura 1-5. Representación de una curva de calibración.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

EJERCICIO

Introducción a la bioquímica clínica

1. Cite las unidades del Sistema Internacional que se utilizan para expresar cantidad de sustancia.

2. Refiera las unidades del sistema convencional que sirven para expresar cantidad de sustancia.

3. Anote cuáles son las unidades convencionales para medir la actividad enzimática.

4. Escriba las unidades convencionales para medir electrólitos.

5. Describa las características de un método analítico cuantitativo.

6. Describa la utilidad de un estándar y un control en el laboratorio clínico.

7. Escriba la equivalencia de un micromol y un nanolitro, así como la abreviatura que se utiliza.

8. ¿Qué características deben considerarse al seleccionar material de plástico para trabajar en el laboratorio clínico?

9. Defina la sensibilidad de un método analítico.

10. Defina linealidad e intervalo analítico.

REFERENCIAS

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica Clínica*. Madrid: Ed. McGraw-Hill Interamericana de España. 1998. pp. 101-108.

González de Buitrago J.M: *Técnicas y métodos de laboratorio clínico*, 2ª edición: España: Masson. 2004. pp. 15-22, 25, 34-36.

Kaplan, Laurence A y A.J. Pesce: *Química clínica*. Argentina: Editorial Médica Panamericana. p. 13.

Morrison Treseler Kathleen: *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico*. México: Ed. El Manual Moderno. 1998. pp. 555-556.

Vives Joan, Luis Aguilar, Joseph Luis: *Manual de técnicas de laboratorio en hematología*, 2ª edición. España: Masson. 2002. pp. 38-41.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 2

Instrumentos utilizados en el laboratorio clínico

ESPECTOFOTÓMETRO

El laboratorio clínico utiliza diferentes técnicas para cuantificar la concentración de una sustancia, así como diversos métodos ópticos basados en los efectos de la interacción de las radiaciones electromagnéticas con la materia, llamadas técnicas espectrofotométricas. Las más utilizadas son las de absorción molecular en el rango de las radiaciones ultravioleta (UV) y visible.

Radiaciones electromagnéticas

Estas radiaciones son una forma de energía radiante que presenta propiedades tanto de onda como de partícula; aun cuando ondas y partículas parezcan incompatibles, debe usarse la dualidad "partícula-onda".

La longitud de onda (λ) es la distancia entre dos puntos correspondientes en dicha onda (figura 2-1).

La frecuencia (*r*) es el número de unidades completas de longitud de onda que pasan por un punto fijo en la unidad de tiempo. Las unidades de la frecuencia son ciclos/segundo.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

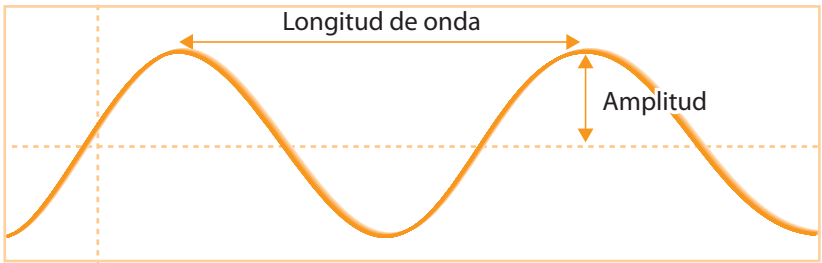


Figura 2-1. Representación de la longitud de onda (λ).

La longitud de onda y la frecuencia se relacionan con la velocidad de la luz mediante la expresión:

$$r = \frac{C}{N}$$

donde

c = Velocidad de la luz en el vacío (2.9976×10^6).
n = Índice de refracción. Relación entre la velocidad de la luz en el vacío y su velocidad en el medio en cuestión.

Propiedades de la partícula

La radiación electromagnética interacciona con la materia mediante un haz de luz como transportador de fotones, de cuyo fenómeno surge el concepto de fotón.

Fotón. Partículas que tienen energía definida y se desplazan en el espacio a la velocidad de la luz.

La energía de un fotón depende de su frecuencia y longitud de onda y se representa por la siguiente fórmula:

$$E = h \times r = \frac{h \times C}{\lambda}$$

donde:

E = Energía del fotón medido en ergs.
r = Frecuencia de la radiación electromagnética medido en ciclos/s.
h = Constante de Planck equivalente a 6.62×10^{27} ergs/s.
λ = Longitud de onda.

Como puede observarse en la fórmula anterior, la relación entre la longitud de onda y la energía de una radiación electromagnética es inversa, de manera que cuanto mayor es la longitud de onda de un haz de luz menor es su energía.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Si un rayo de luz incide sobre la frontera o superficie límite entre dos medios, dicha luz puede reflejarse, refractarse o absorberse.

Cuando un haz de luz pasa de un medio a otro, como del aire al vidrio, una parte de la luz incidente sobre la superficie del vidrio se **refleja** y otra pasa por el vidrio. La luz que penetra en el vidrio se **absorbe** y se transmite parcialmente. La luz que se transmite suele sufrir un cambio de velocidad y de dirección llamado **refracción** y conserva su frecuencia característica. Debido a las diferentes velocidades dentro del medio, el haz de luz blanca se **dispersa** en sus colores componentes.

Espectro electromagnético

Este fenómeno cubre un intervalo muy amplio de longitud de onda, como se muestra en el cuadro 2-1.

Las áreas del espectro electromagnético comúnmente utilizado en el laboratorio clínico son el ultravioleta (180 a 390 nm) y la región visible (390 y 780 nm).

Interacción de la luz con la materia

Cuando se produce una interacción entre un haz de luz y la materia, se producen fenómenos de absorción o emisión energética.

Proceso de absorción

Cuando un átomo que se encuentra en estado de reposo (estado fundamental) interacciona con un haz de luz, absorbe energía y pasa a lo que se denomina estado excitado. Esto involucra alguno de los siguientes procesos:

1. Transición de un electrón a un mayor nivel energético.
2. Cambio en la forma de vibración de las uniones covalentes de la molécula.
3. Alteraciones en el modo de rotación sobre las uniones covalentes.

En las regiones del espectro electromagnético que abarcan de la luz visible a la luz ultravioleta, el proceso de absorción produce una transición de un electrón a

Cuadro 2-1. Regiones del espectro electromagnético

	Rayos gamma	Rayos X	Ultra-violeta (UV)	Luz visible	Infrarrojo (IR)	Microondas
Longitud de onda (nm)	< 0.1	1	180	390	780	400 000

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

un mayor nivel energético. La partícula en estado excitado tiende a regresar espontáneamente a su estado fundamental desprendiendo la energía absorbida.

Los espectros de absorción característicos para cada unión química y cada tipo de unión tendrán su propio patrón característico de longitud de onda óptima de luz que puede absorber. Estos espectros de absorción son de utilidad para seleccionar la longitud de onda más adecuada, ya sea para una medida cuantitativa o para fines de identificación cualitativa.

Espectrofotometría de absorción

La espectrofotometría reviste gran importancia en el laboratorio clínico y de investigación bioquímica. Sus principales ventajas son sensibilidad relativamente elevada, realización rápida y grado de especificidad relativamente alto. Además se puede adaptar a los autoanalizadores.

Por lo general, se le emplea de tres maneras:

a) Determinación de la concentración de un compuesto mediante la medición de la absorción de luz (densidad óptica) a una longitud de onda específica (espectro de absorción).
b) Secuencia del curso de una reacción mediante la medición de la velocidad de la formación y la desaparición de un compuesto que absorbe luz (por ejemplo, $NADH{\bullet}H^+$ absorbe luz a 340 nm, mientras la forma oxidada NAD no absorbe a esa longitud de onda; esto último recibe el nombre de mediciones cinéticas).
c) Identificación de un compuesto por su espectro de absorción característico entre las regiones ultravioleta y visible.

Leyes de absorción

La espectrofotometría se asocia a dos leyes fundamentales: la de Lambert y la de Beer, las cuales se asocian en una sola, conocida como ley de Beer. Dicha ley establece que la concentración de una sustancia es directamente proporcional a la cantidad de energía radiante absorbida, o inversamente proporcional al logaritmo de la energía radiante trasmitida y otra variable que es el trayecto que el haz de luz recorre a través de la solución. Lo anterior puede representarse por la siguiente ecuación:

$$A = a \times b \times C$$

donde:

A = absorbancia.
a = coeficiente de absorción o absortividad.
b = longitud del paso de luz en centímetros.
c = concentración de la sustancia investigada.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Absorción y transmisión

Cuando un haz de energía radiante con una intensidad inicial (*Io*) (luz incidente) incide sobre una cubeta cuadrada (que contiene una solución de un compuesto) y pasa a través de esta solución, absorbe energía radiante a una longitud de onda específica y el haz de luz que sale después de atravesar la cubeta (luz transmitida (*Is*) tiene una intensidad menor (figura 2-2).

Transmitancia (*T*) se define como la relación entre la luz transmitida (la que sale de la solución) y la incidente (la que entra a la solución). Lo anterior significa que cualquier sustancia que absorba energía radiante tendrá una transmisión menor a 1. Para evitar el manejo de decimales se ha recurrido al sistema de porcentaje o multiplicación por 100.

La absorbancia (*A*) es el logaritmo negativo de la luz transmitida:

$$A = 2 \log \% T$$

En los aparatos actuales las lecturas de % *T* son transformadas en absorbancia debido a que la absorbancia no es una cantidad medible directamente, sino que puede obtenerse de los datos de transmitancia por cálculo matemático.

Si se representa gráficamente la relación entre la absorbancia y concentración en un eje de coordenadas, se obtiene una línea recta y la proporción es directa. La línea recta de la gráfica representa que a mayor concentración del compuesto, aumenta la concentración de energía radiante y es menor la concentración de energía trasmitida, lo que significa que obedece a la ley de Beer, en la que la absorción es igual a la concentración.

Cuando la concentración del compuesto en la solución sobrepasa los límites de linealidad, la ley de Beer deja de cumplirse y la recta de la gráfica asume la forma de una curva (figura 2-3), ya que a altas concentraciones la absorción no es directamente proporcional a la concentración. Para poder medir altas concentraciones se requiere diluir la muestra y después multiplicar por el factor de dilución de una sustancia.

$$T = \frac{\text{Luz transmitida}}{\text{Luz incidente}} = Is/I0 = 1$$

Figura 2-2. Transmitancia de energía radiante a través de la cubeta.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

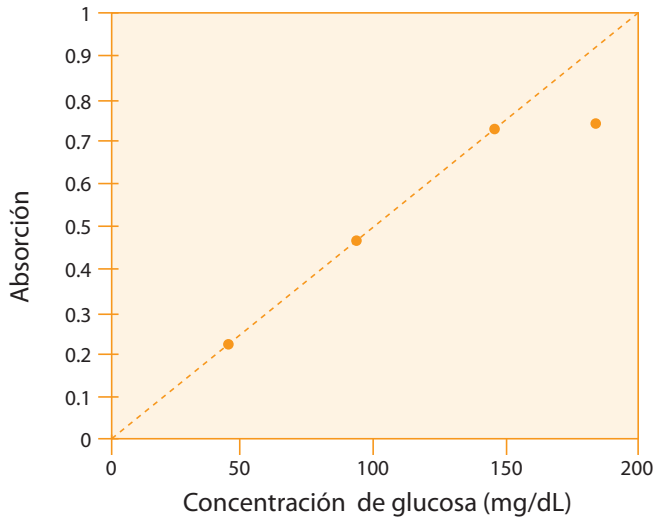


Figura 2-3. Representación gráfica de la linealidad intervalo x - y.

Espectrofotómetros

Estos instrumentos miden la absorción de las radiaciones electromagnéticas por las disoluciones. Sus principales componentes son:

1. Fuente de energía radiante.
2. Selector de longitud de onda.
3. Celda (aquí se coloca un recipiente transparente llamado cubeta, que contiene la solución que se desea medir).
4. Detector de energía radiante.
5. Dispositivo para lectura de datos.

Tipos de instrumentos

Los instrumentos que utilizan prismas o red de difracción como monocromadores se denominan espectrofotómetro (figura 2-4).

La luz emitida por la fuente, que va del rango luz visible a ultravioleta, pasa a través de un monocromador que selecciona la longitud de onda deseada. Una rendija de entrada y salida consigue que el haz de luz sea estrecho; dicho haz pasa a través de la cubeta, donde se produce el proceso de absorción. La luz no absorbida es transmitida al detector, que convierte la energía radiante en energía eléctrica, la cual es registrada en un lector que la traduce en **absorbancia**, **transmitancia** (% *T*) o **concentración de sustancia**.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

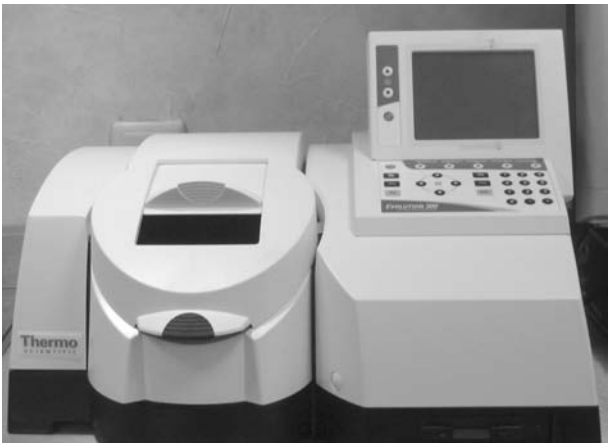


Figura 2-4. Espectrofotómetro.

Al hacer las mediciones, el espectrofotómetro necesita contar con un **blanco**, el cual ajusta el instrumento a 100% de transmitancia o cero de absorbancia. El blanco puede ser agua, reactivos, aire, entre otros. En todas las mediciones realizadas mediante espectrofotometría es indispensable correr un estándar (solución de concentración conocida) con las soluciones problema (el suero del paciente). Se puede conocer la concentración de los problemas mediante la comparación de los estándares o la lectura de las gráficas de absorción y concentración (figura 2-3).

Fuentes de energía radiante

Éstas pueden ser lámparas con filamento de tungsteno, que proporcionan energía radiante en los rangos de luz visible y ultravioleta.

Las lámparas de filamento de yoduro de tungsteno producen luz a longitudes de onda cortas y emiten energía de mayor intensidad que las de filamento de tungsteno.

Las lámparas de hidrógeno producen un espectro continuo en la región (de 220 a 360 nm).

Rendijas. La función de las rendijas de entrada es reducir al máximo la luz difusa y evitar que la luz dispersa entre en el sistema de selección de longitud de onda.

La rendija de salida tiene como función impedir que la luz difusa atraviese la cubeta, lo que causaría desviación de la ley de Beer.

A continuación se refieren algunos sistemas de selección de longitud de onda.

Filtros. Mecanismo sencillo compuesto por un material que trasmite de manera selectiva una longitud de onda deseada y absorbe todas las demás. Son utilizados en los fotómetros o colorímetros.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Monocromadores. Proporcionan bandas espectrales mucho más estrechas que los filtros y son los más utilizados en espectrofotometría.

Cubetas. Recipientes donde se coloca la muestra para la medición espectrofotométrica. Su paso de luz es generalmente de 1 cm; y pueden ser redondas, cuadradas o rectangulares. El material utilizado para las cubetas puede ser vidrio o plástico para leer en la región visible y de cuarzo en la región ultravioleta.

Detectores. Estos artefactos utilizan tubos fotomultiplicadores, que son dispositivos electrónicos que amplifican la señal eléctrica para poder registrarla.

Registro. Los instrumentos modernos aportan resultados en lectura digital y proporcionan datos directos en concentración mediante microprocesadores.

La utilidad del espectrofotómetro es medir las concentraciones de sustratos (glucosa, urea, ácido úrico, colesterol, triglicéridos, etc.), enzimas (ALT, AST, CPK, LPL, etc.) y minerales (calcio, fósforo) en los diversos líquidos biológicos.

Cromatografía

Las técnicas de separación de compuestos más usadas en el laboratorio clínico son la cromatografía y la electroforesis, procesos mediante los cuales dichos compuestos pueden ser cuantificados posteriormente mediante diversos métodos.

Cromatografía. Técnica empleada para separar o purificar pequeñas cantidades de compuestos muy relacionados presentes en una mezcla. La separación cromatografía se produce entre dos fases:

- *Fase móvil.* Componente líquido o gaseoso en el cual están los solutos que se pretende separar.
- *Fase estacionaria.* Puede ser un líquido o un sólido, por el cual fluirá la fase móvil.

Los distintos componentes de una mezcla se separarán en función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria, con base en el equilibrio de dichas fases. Así, un compuesto que tenga más afinidad que otro por la fase estacionaria se retrasará en su avance por esta fase y el compuesto que tenga menor afinidad lo atravesará antes.

Cuando todos los componentes de la mezcla han atravesado la fase estacionaria se separan y esto puede ser empleado para identificar o cuantificar los compuestos de la mezcla.

Las técnicas de cromatografía pueden ser clasificadas con base en las características físicas de las fases de acuerdo con el mecanismo físico que separa los solutos entre las dos fases. Estos mecanismos son adsorción, reparto, intercambio iónico, exclusión molecular y afinidad.

En las técnicas de cromatografía se emplean distintas formas de soportes sobre los que actúan las fases de la separación: cromatografía en capa fina y cro-

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

matografía en columna. En este apartado sólo se mencionarán algunos tipos de cromatografía, en el cuadro 2-2 se describen algunos tipos de cromatografía.

Cromatografía en capa fina (CCF). La fase estacionaria de esta cromatografía es una placa de vidrio o plástico recubierto por una capa fina (de 100 a 500 mm) de gel de sílice, gel de poliacrilamida o gel de almidón.

La fase móvil es líquida y está formada por solventes de polaridad determinados en función de la fase sólida estacionaria y se considera una cromatografía líquido/sólido. En esta cromatografía de capa fina, en la cual la muestra es arrastrada por el solvente a través de la placa de vidrio, la separación ocurre por causa de diferencias de solubilidad, polaridad del solvente, polaridad de la sustancia que interesa separar y la velocidad de difusión.

Cuando el solvente llega al final de la fase estacionaria, ésta se saca y se deja secar. El cromatograma aparece en forma de manchas que corresponden a los componentes separados de la muestra (figura 2-5).

Identificación. Estas manchas pueden identificarse ya sea por patrones o estándares, sustancias de naturaleza conocida con la que se comparan.

Cuantificar. Puede disolverse la mancha raspando la zona y disolviendo el polvo absorbido en la placa y midiéndola en un colorímetro o en un densitómetro de placa.

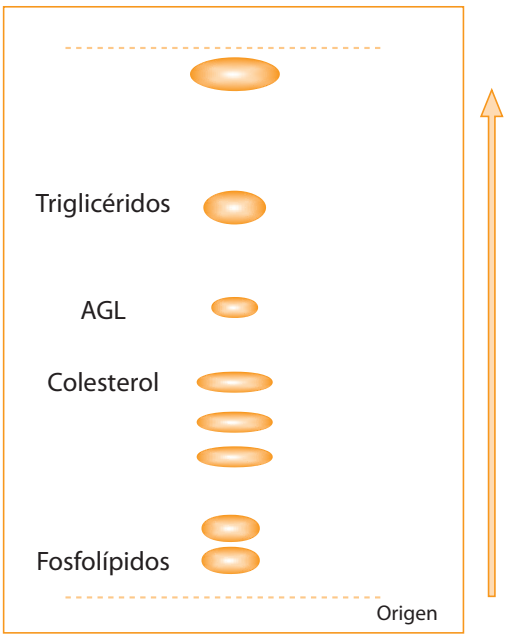


Figura 2-5. Cromatografía en capa fina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 2-2. Bases de las diferentes cromatografías

Tipo de cromatografía	Fundamento
Cromatografía en capa fina (CCF)	Esta cromatografía lleva como fase estacionaria una placa de vidrio o plástico recubierta por una fina capa de poliacrilamida o gel de almidón. La fase móvil es líquida y está formada por solventes de polaridad que van en función de la fase sólida estacionaria. Se considera una cromatografía líquido/sólido.
Cromatografía de intercambio iónico	Separa las sustancias con bases en las interacciones electrostáticas que se producen entre los grupos ionizables de los compuestos que se desea separar y los grupos con carga eléctrica se colocan en un soporte sólido.
Cromatografía de exclusión molecular	Se basa en la separación de las moléculas según su tamaño y su forma. La fase estacionaria es un gel y se realiza en columna.
Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Se basa en sistemas impulsores de la fase móvil (líquida) con mucha presión. Se realiza en columna.

Cromatografía en columna. Los métodos en columna se emplean mediante varios tipos de cromatografía. Se utiliza tanto para cromatografía líquida como para cromatografía gaseosa y con fases estacionarias tanto líquidas como sólidas. Este tipo de cromatografía es de adsorción si la fase estacionaria es sólida y de partición cuando la fase estacionaria es líquida.

Las columnas con que se trabaja están formadas por un tubo de longitud y ancho variable que lleva empaquetado la fase estacionaria (sólido, o un sólido asociado a un líquido). La fase móvil es un solvente que se hace pasar a través de la columna en la cromatografía líquida y un gas en la cromatografía gaseosa.

La muestra se introduce en la fase móvil, donde las fases móvil y estacionaria se encuentran en equilibrio, de manera que la separación de los componentes de la muestra se lleva a cabo por su distribución entre las dos fases.

Cromatografía de Intercambio iónico

En esta cromatografía la fase móvil es líquida y la fase estacionaria es sólida; se realiza en columnas (como soporte) en la que la fase sólida se encuentra empaquetada. La separación de las sustancias se basa en las diferencias existentes entre las cargas eléctricas.

La fase estacionaria es una resina de intercambio iónico que posee grupos cargados positivos (aniónicas) o negativos (catiónicas).

Las resinas son polímeros sintéticos de alto peso molecular, altamente insolubles, que contienen grupos funcionales iónicos (alcalinos o ácidos). La función de estas resinas con carga en su superficie es intercambiar iones con los de la

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

fase móvil y los de la muestra. La utilidad de esta técnica es eliminar los iones no deseados, como purificación de agua. Su aplicación en el laboratorio clínico es para eliminar altas concentraciones de ácido ascórbico, bilirrubina y ácido úrico que interfieran en la medición de glucosa en sangre.

Cromatografía de exclusión molecular. Antes llamada filtración de geles. La fase móvil es líquida y una fase estacionaria sólida que se encuentra en columnas consiste en un gel que presenta poros de un tamaño determinado; el más conocido es el Sephadex (nombre comercial). El fundamento de la separación es la diferencia en el tamaño molecular de las sustancias que habrán de separarse.

La fase estacionaria es una dextrona modificada (Sephadex) que contiene poros de diferente tamaño y que pueden regularse con exactitud. La sustancia que se desea separar es introducida en la columna y atraviesa la fase sólida, de manera que la sustancia cuyo tamaño es mayor que el poro del soporte pasa en el gel sin ser retenida y la de peso molecular más pequeño se verá retardada en su paso en la fase estacionaria en la columna como se puede observar en la figura 2-6.

La muestra se introduce en la columna y comienza a atravesar la fase estacionaria, penetrando las partículas pequeñas en el gel, por lo que son retenidas. Las partículas grandes no son retenidas.

La muestra comienza a eludir, siendo eluidas primero las partículas de mayor tamaño y después las de menor tamaño. Esta técnica se utiliza para separar inmunoglobulinas, obtener las fracciones de proteínas plasmáticas del LCR o para separar moléculas muy pequeñas de soluciones de proteínas.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Esta cromatografía tiene ventaja sobre las demás por la velocidad del análisis y el poder de resolución.

Emplea instrumentos relativamente complicados que mediante impulsos controlados introduce el solvente.

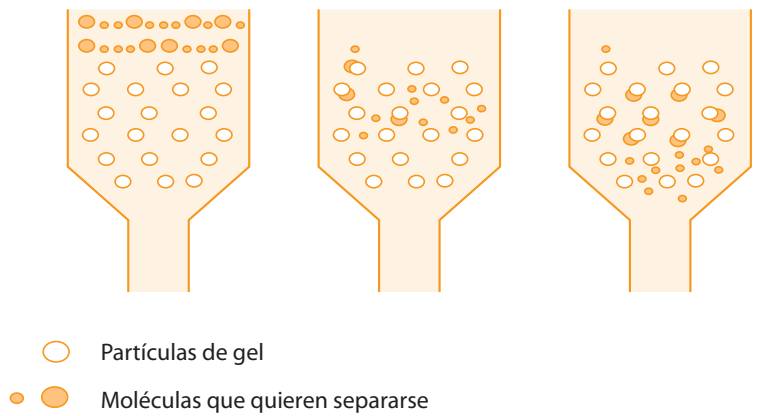


Figura 2-6. Cromatografía de Exclusión molecular.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Figura 2-7. Cromatografía HPLC.

Los componentes básicos en el sistema de separación son (figura 2-7):

1. Sistema para dispensar el solvente, que provee la fuerza impulsora a la fase móvil (bombas).
2. Sistema para la introducción de la muestra.
3. Columna con fase estacionaria.
4. Detector (lámpara ultravioleta fluorescente).
5. Registro.
6. Ordenador.

La principal utilidad de la cromatografía HPLC en el laboratorio clínico es que cuantifica fármacos en suero, separa aminoácidos en suero y orina, hormonas en plasma y orina, vitaminas A y E en suero, entre otros procesos.

ELECTROFORESIS

Técnica de separación en la cual una partícula cargada se desplaza a través de un medio aplicando un campo eléctrico. Los factores que intervienen son intensidad del campo eléctrico, carga eléctrica, forma y tamaño de las partículas. Para realizar la electroforesis debe tomarse en cuenta que la densidad de carga de la partícula está en función del pH, de la fuerza iónica del gradiente de voltaje y de la interacción con el medio.

Cuando una partícula cargada se coloca en el interior de un campo eléctrico, se moverá hacia el polo positivo o negativo en función de la carga que posea; si la partícula está cargada positivamente (catión), migrará hacia el polo negativo (cátodo).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Existen dos tipos de electroforesis: electroforesis libre y electroforesis de zona.

Electroforesis libre. En ésta el campo eléctrico se aplica directamente a la solución. Esta técnica es compleja y costosa y requiere de un sistema óptico que determine el índice de refracción de las proteínas en el curso de su emigración.

Electroforesis de zona. En este tipo de electroforesis, las partículas cargadas se colocan sobre un medio estabilizador en el que emigran las fracciones de la muestra que habrá de investigarse. Los principales medios estabilizadores o fase estacionaria que se utilizan en el laboratorio clínico son papel filtro, acetato de celulosa, gel de agarosa, gel de almidón y gel de poliacrilamida. Estos medios estabilizadores deben ser inertes es decir, no deben reaccionar con la sustancia que se desea investigar.

La electroforesis de zona es de gran utilidad en el laboratorio clínico en los diversos líquidos biológicos (suero, plasma, sangre total, orina, LCR), así como para fraccionar proteínas totales, lipoproteínas en suero, enzimas, isozimas, hemoglobina e inmunoglobulinas en suero, entre otras.

El instrumento para realizar la electroforesis consta de cubeta de electroforesis y fuente de alimentación.

Cubeta de electroforesis. Consiste en una cámara que contiene los electrodos de carga opuesta, situada en dos receptáculos que se conectan por un puente salino cuya función es permitir el paso de la corriente como se observa en la figura 2-8.

Fuente de alimentación. Su función es aportar la energía para que pueda llevarse a cabo el proceso. Al terminar de fraccionar el compuesto ionizado que se encuentra en el medio estabilizador, es necesario hacer una coloración de los componentes que se desea visualizar. Los colorantes usados para detectar aminoácido es la ninhidrina y para la separación de lipoproteínas se utiliza el colorante negro sudan 13. Para leer estas fracciones coloreadas pueden utilizarse dos métodos: por elución y por densitometría.

Elución. En este método, cada fracción se recorta y eluye en un disolvente adecuado al colorante con que se tiñeron los productos sujetos a investigación.

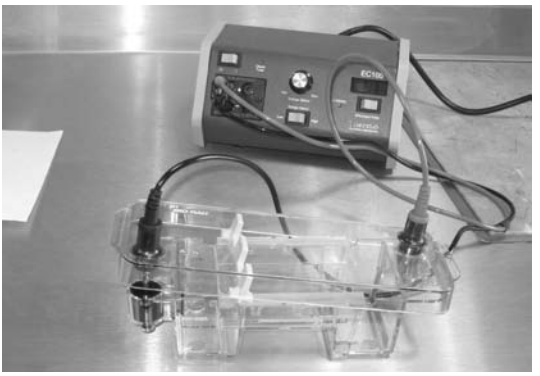


Figura 2-8. Cubeta de electroforesis.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

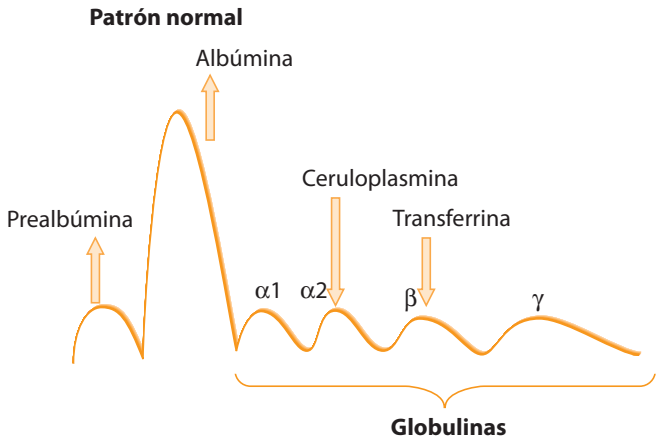


Figura 2-9. Patrón electroforético normal.

Se obtiene así una solución coloreada que se cuantifica espectrofotométricamente.

Densitometría. Consiste en la lectura directa del gel que presenta fracciones coloreadas, en la cual se selecciona una longitud de onda que será la que corresponda al color de las fracciones que habrán de leerse. El densitómetro es capaz de fabricar una gráfica de registro del recorrido del haz de luz (patrón electroforético). En este registro cada fracción aparece como pico, cuya altura depende de la densidad de la banda que representa concentración de la sustancia (figura 2-9).

La electroforesis se utiliza para medir las fracciones de las proteínas del plasma y se reporta en porcentaje como se representa en el cuadro 2-3; ésta se basa en las propiedades eléctricas que poseen los aminoácidos, tales como carga positiva (grupos NH^{+3}) y negativa (grupos COO^{-}) y grupos R cargados (SH, OH). Cuando una proteína es colocada en un campo eléctrico, es atraída

Cuadro 2-3. Proteinograma electroforético

Fracción proteica	Porcentaje del total de las proteínas séricas
Albúmina	52 a 65% de las proteínas totales
Alfa$_1$	2.5 a 5.0% de las proteínas totales
Alfa$_2$	7.0 a 13.0% de las proteínas totales
Beta	8.0 a 14.0% de las proteínas totales
Gamma	12.0 a 22.0% de las proteínas totales

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

hacia uno de los polos (el positivo o el negativo), de acuerdo con su carga neta, la cual varía en relación al pH de la solución en que se encuentra.

Con un pH (8.6) alcalino, las proteínas migran hacia el polo negativo; esta migración es relativamente rápida y depende de la carga y el peso de la molécula proteica.

Las proteínas sufren una separación característica que puede graficarse por medio de un densitómetro, obteniendo así una imagen a la que se denomina patrón electroforético de proteínas.

Como puede observarse en la figura 2-9, el patrón está constituido por cinco elevaciones, visto de derecha a izquierda, cuyo pico más grande corresponde a la albúmina, que es la fracción proteica con mayor carga negativa neta. Las otras elevaciones son la prealbúmina y las correspondientes a las globulinas alfa, alfa$_2$, beta y gamma.

EJERCICIO

Instrumentos utilizados en el laboratorio clínico

1. Defina los siguientes términos:

- Energía radiante.

  _____

- Fotón.

  _____

- Longitud de onda.

  _____

- Frecuencia.

  _____

- Absorción y transmisión.

  _____

2. ¿A qué velocidad viajan las ondas electromagnéticas?

_____

3. Cite las regiones del espectro electromagnético y sus rangos.

_____

_____

4. ¿Cuáles de las anteriores regiones del espectro son las que utiliza el espectrofotómetro?

_____

5. Escriba la ecuación de la ley de Beer y Lambert y describa cuál es su utilidad en la espectrofotometría.

_____

_____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

6. Dibuje la gráfica que representa las mediciones de absorción y cómo se interpretan.

7. ¿Cuál es la utilidad de un espectrofotómetro en el laboratorio clínico?

8. ¿Cuáles son los estándares utilizados en estos aparatos?

9. Defina los siguientes términos:

- Cromatografía:
- Electroforesis:

10. ¿Cuáles son las fases de una cromatografía?

11. Refiera las clasificaciones de la cromatografía.

12. ¿Cite cinco utilidades de la electroforesis en el laboratorio clínico.

13. Cite los tipos de lipoproteínas obtenidas por electroforesis y sus cifras normales.

14. Dibuje un patrón electroforético normal de proteínas en suero.

© *Editorial El Manual Moderno* Fotocopiar sin autorización es un delito.

REFERENCIAS

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Madrid. Ed. Mc.Graw-Hill Interamericana de España. 1998 pp. 7-9 y 17-24.

González de Buitrago J.M: *Técnicas y métodos de laboratorio* clínico. 2ª edición. Masson. España. 2004. pp. 133-139, 215-225 y 230-232.

Henry, John Bernard: *El laboratorio en el diagnóstico clínico*. 20a. edición. España. Editorial Marbán. 2007. Vol. 1, pp. 61-63 y 260-262.

Kaplan, Laurence A y A.J. Pesce: *Química clínica*. Argentina Editorial. Médica Panamericana. p. 13.

Murray, Robert K. (*et al*): *Bioquímica de Harper*. México. El Manual Moderno. 15ª. edición. 2003. pp. 38, 39, 197, 844-847.

Murray, Robert K. (*et al*): *Bioquímica de Harper*. México. El Manual Moderno. 17ª edición. 2007. p. 613.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 3

Recolección y manejo de muestras de sangre y orina

El control de calidad en el laboratorio clínico empieza desde antes de la recolección de la muestra del paciente. La exactitud comienza al obtener la muestra adecuada en el recipiente adecuado y considerando las variables que pueden afectar la medición (como dieta, medicamentos, ejercicio, hora del día, entre otros).

La sangre es el fluido corporal más utilizado en el laboratorio clínico. La muestra de sangre puede obtenerse por diferentes procedimientos. De éstos, los más utilizados son:

- Punción cutánea.
- Punción venosa.
- Punción arterial.

Punción cutánea. Método de extracción sanguínea utilizado en niños, sobre todo recién nacidos y pacientes geriátricos.

La punción cutánea puede realizarse en la superficie exterior del talón en los lactantes y en la última falange del tercero o cuarto dedos de la mano en niños mayores. La punción no debe realizarse donde exista edema o se haya puncionado anteriormente. Esta práctica se realiza con lancetas desechables.

Punción venosa. Es el principal método de obtención de sangre en el laboratorio clínico. Las venas que se eligen generalmente son la vena cubital interna y la cefálica (antebrazo); otros lugares pueden ser la muñeca, el tobillo y la mano. Cuando no es posible realizar este tipo de punción, puede recurrirse a la vena femoral o a la yugular.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

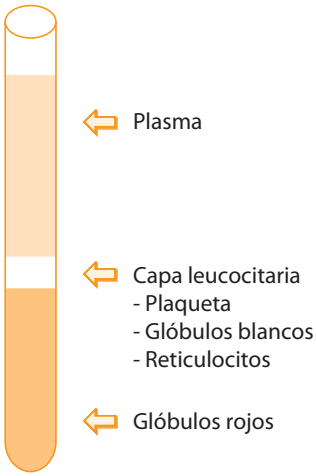


Figura 3-1. Sangre completa centrifugada.

Punción arterial. En las determinaciones de la tensión de oxígeno, dióxido de carbono y pH se requiere sangre arterial. Las características de la sangre varían según se trate de arterial, venosa o capilar, principalmente en su contenido en oxígeno, glucosa, pH y hematocrito.

PLASMA Y SANGRE COMPLETA

La sangre es una suspensión de células en un líquido llamado plasma que circula por el sistema vascular, formado por vasos sanguíneos de diverso calibre.

El plasma, constituido en 50% del volumen total de la sangre (figura 3-1), está formado por 90% de agua, en la que se hallan disueltas diversas sustancias nutritivas, de recambio metabólico o de desecho celular. Estas sustancias son gases, electrólitos, enzimas y derivados del catabolismo celular. El componente plasmático más abundante está formado por proteínas que sintetizan las células de los tejidos y son vertidas al plasma mediante mecanismos diversos como exocitosis o recambio celular (figura 3-2). El 50% restante del volumen sanguíneo está constituido por células que, igual que los componentes plasmáticos, se hallan sometidos a continuos procesos de recambio y renovación. Estas células son de tres tipos: eritrocitos, leucocitos y plaquetas y todas ellas tienen origen en una única célula pluripotencial (célula madre), situada en el tejido hematopoyético de la médula ósea (véase capítulo 4).

OBTENCIÓN DE SANGRE COMPLETA O PLASMA

Para obtener plasma o sangre completa se requiere el uso de anticoagulantes tales como heparina, oxalato, citrato o sales de ácido etilendiamino tetracético (EDTA, o sequestrene). Si la sangre completa es centrifugada se obtiene plasma.

ANTICOAGULANTES

Para la obtención de plasma y sangre completa se requieren anticoagulantes, los que se citan en el cuadro 3-1.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

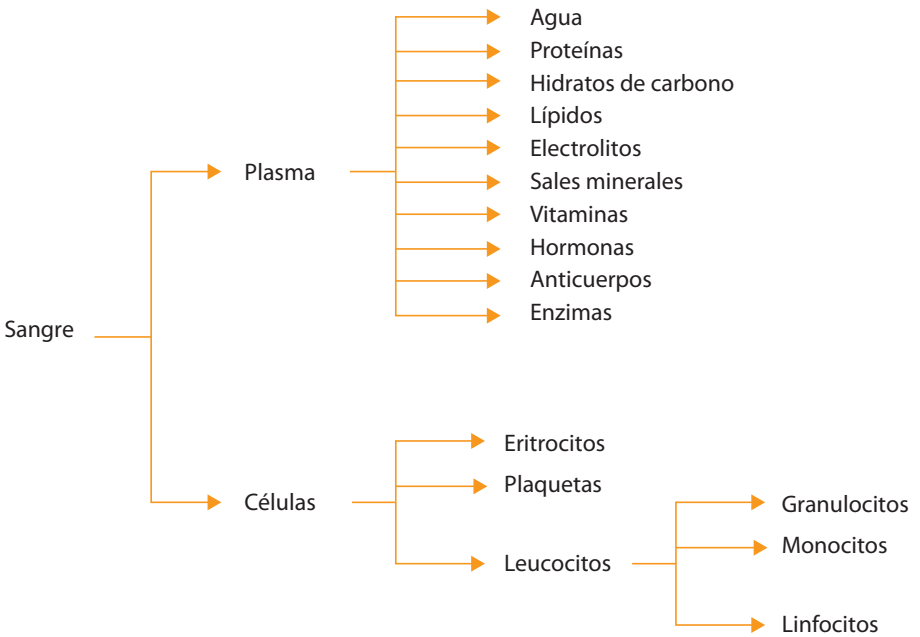


Figura 3-2. Componentes de la sangre completa.

La mayoría de ellos impiden que el calcio intervenga en la coagulación. El oxalato de amonio o de potasio elimina el Ca^{++} precipitándolo. El citrato y el EDTA fijan el calcio en forma no ionizada y la heparina evita la coagulación neutralizando la trombina.

Cuadro 3-1. Tubos de vacío y su aplicación

Muestras	Anticoagulante	Color del tapón	Acción del anticoagulante	Mediciones
Plasma	Citrato	Azul	Captura calcio	Pruebas de coagulación
Plasma	EDTA	Lila	Captura calcio	Biometría hemática
Plasma	Heparina	Verde	Inhibe trombina	Tiempo de protrombina
Suero	Yodoacetato	Gris	Inhibe la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa	Glucosa, ácido láctico
Plasma parcial	Fluoruro	Gris	Inhibe la enolasa	Glucosa
Suero	Ninguno	Azul brillante	Libre de contaminantes	Oligoelementos, metales pesados
Suero	Ninguno	Marrón	Libre de plomo	Plomo
Suero	Ninguno, separador de suero	Gris/rojo	Barrera de gel	Química

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

OBTENCIÓN DE SUERO

Una vez extraída la sangre, ésta sufre un proceso de coagulación que aparece en forma espontánea entre los 3 y 7 minutos. En esta primera etapa la sangre se transforma en una masa semisólida de color rojo llamada coágulo y posteriormente aparecen dos fases diferenciadas: el coágulo y la parte líquida es llamada suero con las mismas características del plasma. La diferencia con el plasma es que no contiene fibrinógeno ni enzimas de la coagulación. El suero se obtiene por centrifugación.

La presencia de algunas moléculas en suero o plasma (como la bilirrubina) provoca interferencia en las mediciones colorimétricas por espectrofotometría en las determinaciones de albúmina, colesterol o glucosa. Otras interferencias son las concentraciones superiores a 350 mg/dL de triglicéridos.

RECIPIENTE DE RECOLECCIÓN

La extracción de sangre puede realizarse con jeringas y mediante el sistema de tubos de vacío, que actualmente es el que se utiliza por ser más eficiente y seguro.

Sistema de vacío. La recolección con jeringa ha sido reemplazada en gran medida por el uso del sistema de vacío (figura 3-3). En el mercado se conoce como sistema de Vacutainer (*Becton Dickinson & Co. Paramus*).

Los tubos de vacío pueden contener silicón para reducir los riesgos de hemólisis y evitar que la sangre se adhiera a las paredes; de esa manera se obtiene suero. Existen en este sistema otros tubos con diferentes anticoagulantes, según la determinación que habrá de realizarse (cuadro 3-1). Es importante considerar diferentes factores en la extracción de sangre que pueden causar variación en la medición analítica. A continuación se refieren algunos.

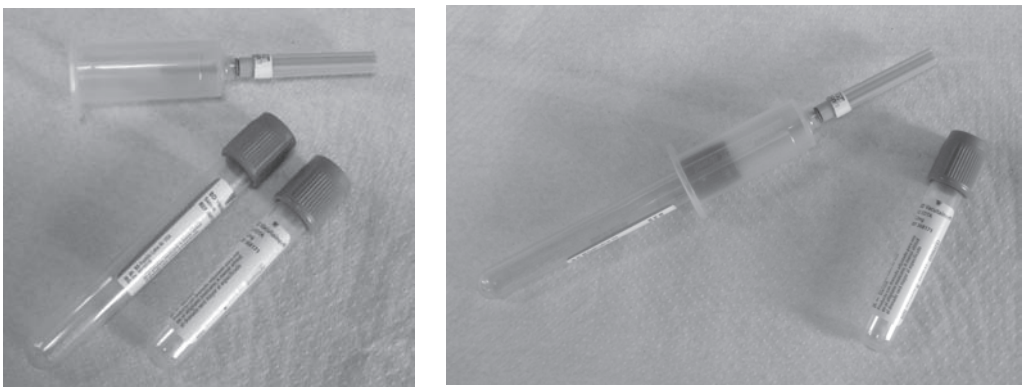


Figura 3-3. Sistema de vacío para extracción sanguínea.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Hora del día. Para evitar variaciones se sugiere realizar la toma de sangre en la mañana (entre 7 y 9 am), ya que se presentan cambios importantes a diferentes horas del día en sustancias como glucosa, triglicéridos y hierro, entre otras horas.

Postura. La postura del paciente tiene un importante efecto en las proteínas y las sustancias unidas a ellas (por ejemplo, proteínas totales, albúmina, lípidos, hierro, calcio, enzimas). Lo ideal para reducir estos efectos es extraer todas las muestras de sangre del paciente o en forma estandarizada (misma posición).

Estasis. El uso prolongado de un torniquete también puede elevar un cierto número de resultados. Por ejemplo, la concentración sérica de proteínas y de las sustancias fijadas a proteínas aumenta por la aplicación de un torniquete por más de 60 segundos.

Ejercicio. Los resultados se alteran con muestras de sangre recolectadas después de realizar ejercicio. Las variaciones bioquímicas que se presentan son aumento de la concentración de alanina-transaminasa, lactato, creatina-fosfociansa, entre otros.

Hemólisis. Esto puede presentarse por el uso de agujas muy gruesas, humedad en la jeringa o mezclado vigoroso de la sangre. La hemólisis causa elevación de la concentración de las sustancias que serán sujetas a investigación, ya que las células sanguíneas contienen sustratos y enzimas (por ejemplo, DHL, colesterol, potasio y hierro, entre otros).

Ayuno adecuado. En la mayoría de las mediciones bioquímicas se pide al paciente que acuda con 8 o 10 h de ayuno. En las mediciones de triglicéridos se requiere un ayuno de 12 a 14 h. Ayunos muy prolongados (24 h) causan activación de las vías catabólicas. Ciertos alimentos o regímenes dietéticos especiales pueden influir en las determinaciones en sangre.

Fármacos. La respuesta *in vivo* frente a un fármaco depende del individuo, de las dosis del medicamento y de la combinación con otros medicamentos. Es importante conocer los efectos fisiológicos que provocan y la interferencia química.

Tabaquismo. El consumo de tabaco produce un aumento en el plasma de algunas hormonas como el cortisol y la adrenalina, lo que causará un aumento de la concentración de los ácidos grasos circulantes y de neutrófilos y monocitos y también se refleja en un aumento de los ácidos grasos libres del plasma.

Almacenamiento de la sangre

Deben evitarse las alteraciones en las concentraciones de los sustratos o enzimas que serán medidas durante su almacenamiento. Si el análisis de la muestra no habrá de realizarse el mismo día, ésta debe ser refrigerada o congelada, según los requisitos para su determinación. Se requiere obtener suero o plasma antes de refrigerar para almacenar.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE ORINA

General de orina

Para el estudio denominado "General de orina" se requiere solamente una muestra de orina (primera de la mañana) previo aseo.

Estudio orina 24 h

Para estudios donde se requiere orina de 24 h es importante que el paciente siga las instrucciones, pues de lo contrario las determinaciones serian erróneas.

Para dicho estudio debe cumplirse con lo siguiente:

1. El laboratorio proporciona un frasco especial para el parámetro que habrá de determinarse.
2. El paciente elimina toda la orina a primera hora de la mañana (por ejemplo, 7:00 am).
3. Desde ese momento y hasta el siguiente día a la misma hora, el paciente recolectará todos los volúmenes de orina.

Examen de urocultivo

Para el estudio de urocultivo se requiere una muestra de la mañana, previo aseo, para lo cual el laboratorio proporcionará un frasco estéril. Es requisito indispensable que el paciente tenga más de 3 días de no tomar antibióticos, ya que se investiga el número de bacterias, así como su género y especie.

EJERCICIO

Recolección y manejo de muestras de sangre y orina

1. Describa cómo se obtiene sangre completa.

2. Describa cómo se obtiene suero y plasma.

3. Describa los tipos de anticoagulante utilizados en el laboratorio, así como su función.

4. ¿Cuántos tipos de punciones existen para extraer sangre?

5. ¿Qué factores deben tomarse en cuenta para la extracción de sangre?

6. Describa las instrucciones para los exámenes de orina de 24 h.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

REFERENCIAS

Bernard Henry, John: *El laboratorio en el diagnóstico clínico*. 20a. edición. España. Editorial Marbán. 2007. Vol. 1. pp. 17-21, 23, 24, 388.

Gil, José Luis: *Hematología sin microscopio*. Ed. Masson. España. 2003. pp. 12, 13.

González de Buitrago J.M: *Técnicas y métodos de laboratorio clínico*. 2ª edición. Masson. España. 2004. pp. 49-54, 62-64.

Morán Villatoro, Luis: *Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica*. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. México. 2001. Editorial Panamericana. pp. 47, 65, 103, 120.

Vives Joan, Luis. Aguilar, Joseph Luis: *Manual de técnicas de laboratorio en hyematología*. 2ª edición. Masson. España. 2002. pp. 39, 40.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 4

Introducción a la hematología

HEMATOPOYESIS

En las primeras semanas de vida embrionaria aparecen los inicios de hematopoyesis en el saco vitelino y entre el primer y el tercer mes esta función la realiza el hígado y en menor proporción el bazo, que son órganos hematopoyéticos fundamentales durante la vida fetal. A partir del cuarto mes de gestación se inicia la hematopoyesis en el esqueleto y al momento del nacimiento es casi total en la médula ósea y va desapareciendo la actividad del hígado y el bazo.

La médula ósea es un órgano que tiene amplia distribución y que puede dividirse en dos tipos principales: la médula hematopoyética activa (roja) y la médula amarilla. En el recién nacido casi toda la médula ósea es roja, pero en el adulto la médula de los huesos largos se vuelve amarilla, con excepción de pequeñas regiones en las cabezas del húmero y el fémur y en los espacios intertrabeculares de los huesos del esqueleto axial, tales como el esternón, las vértebras y el hueso iliaco (figura 4-1).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

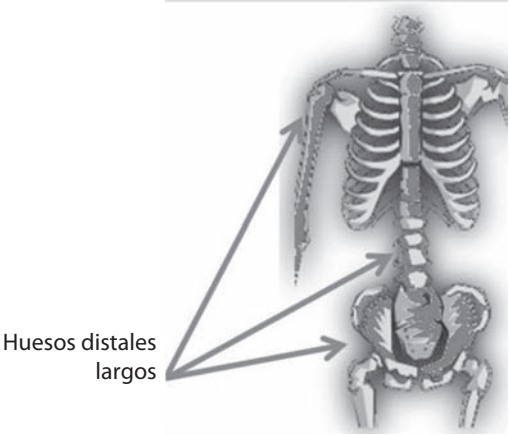


Figura 4-1. Hematopoyesis.

SISTEMA HEMATOPOYÉTICO

Este sistema incluye a los tejidos y órganos que intervienen en la producción, maduración y destrucción de las células sanguíneas. Éstos son:

- Médula ósea.
- Hígado.
- Bazo.
- Ganglios linfáticos.
- Timo.
- Sistema mononuclear fagocítico.

Compartimiento de células madre hematopoyéticas

El tejido hematopoyético presenta compartimentos celulares jerarquizados. La población celular hematopoyética se clasifica en:

- Compartimiento pluripotencial.
  - Célula madre.
- Compartimiento bipotencial.
  - Células progenitoras.
  - Células precursoras.
  - Compartimiento terminal.
  - Células maduras.

En el compartimiento pluripotencial se encuentra la célula madre o célula “stem”; se puede definir como la célula que posee una capacidad de automantenimiento que se prolonga durante gran parte de la vida de un individuo.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

La célula madre desempeña un papel esencial, pues todas las células sanguíneas (eritrocitos leucocitos y plaquetas) proceden de las células madre pluripotencial (figura 4-2).

En este primer compartimiento se incluyen células progenitoras más primitivas, capaces de dividirse y autoperpetuarse, pero a las que morfológicamente no es posible diferenciarlas entre sí.

En el segundo compartimiento se encuentran las células progenitoras y precursores, que pueden ser reconocidas mediante el estudio de la morfología en un frotis de médula ósea, donde se reconoce a las células de cada una de las series: mieloide, eritroide, granulocítica, monocítica y plaquetaria.

Eritropoyesis

Es regulada por el grado de oxigenación tisular y por la hormona eritropoyetina. El grado de oxigenación tisular depende del nivel de la hemoglobina, el cual es apreciado por el **sensor de oxígeno** a nivel de la médula renal, de forma que la hipoxia (disminución de la presión de oxígeno) provoca la producción de eritropoyetina.

La eritropoyesis se lleva a cabo en la médula ósea, donde la célula madre (o *stem-cell*) es una célula pluripotencial con información de todas las células sanguíneas. En la siguiente etapa se convierte en una célula multipotencial que posee información de los leucocitos (basófilos, neutrófilos, eosinófilos, monocitos), plaquetas y eritrocitos. Después de estas dos etapas se convierte en células progenitoras comprometidas con la síntesis de eritrocitos y tienen dos fases:

- Las unidades formadoras eritroides explosivas (BFU-E).
- Las unidades formadoras de colonias eritroides (CFU-E).

Durante el estadio de maduración, las células progenitoras eritroides (CFE-E) se convierten en proeritoblastos, que es el primer precursor eritroide reconocible. El proeritoblasto sufre mitosis y forma el eritoblasto basófilo, que debe su nombre a la alta concentración en el citoplasma de ácido ribonucleico (RNA), el cual tiene una afinidad por los colorantes básicos. La descendencia de la mitosis de los eritroblastos basófilos son los eritoblastos policromatófilos; en esta división los eritroblastos policromatófilos empiezan a sintetizar cierta cantidad de hemoglobina. Cuando las células han adquirido casi toda su dotación de hemoglobina, su citoplasma es eosinófilo y estas células se convierten en eritroblastos ortocromáticos. Durante su madurez el núcleo es expulsado, formándose así el reticulocito (figura 4-3).

El tiempo necesario para la maduración de un precursor de los eritrocitos es de aproximadamente 6 a 8 días. En la anemia se disminuye el tiempo de expulsión del núcleo, lo que explica que se presenten eritrocitos con tamaño superior (macrocitosis) en sangre periférica y en eritrocitos nucleados (eritroblastos) en casos extremos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

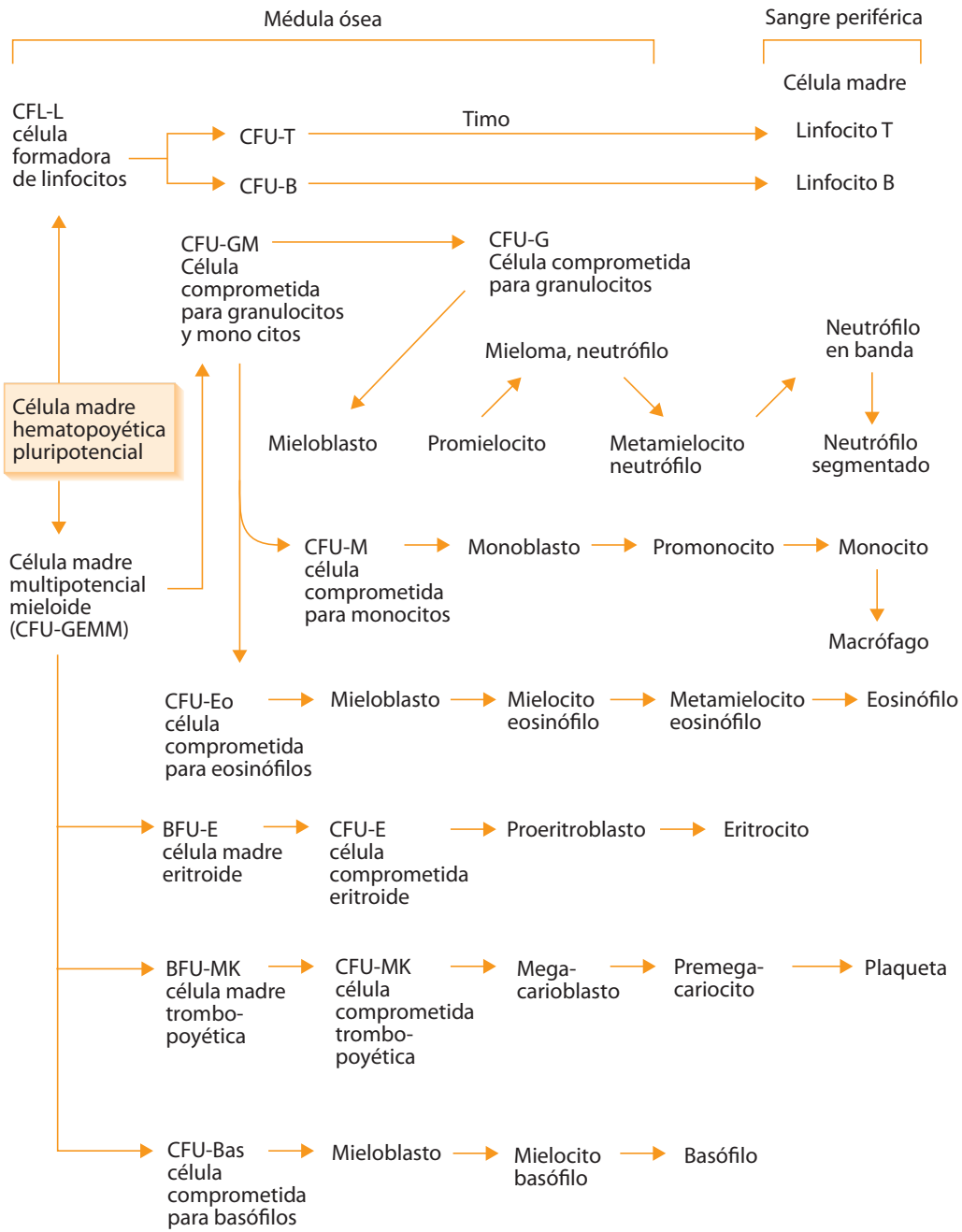


Figura 4-2. Esquema del origen de las células sanguíneas.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

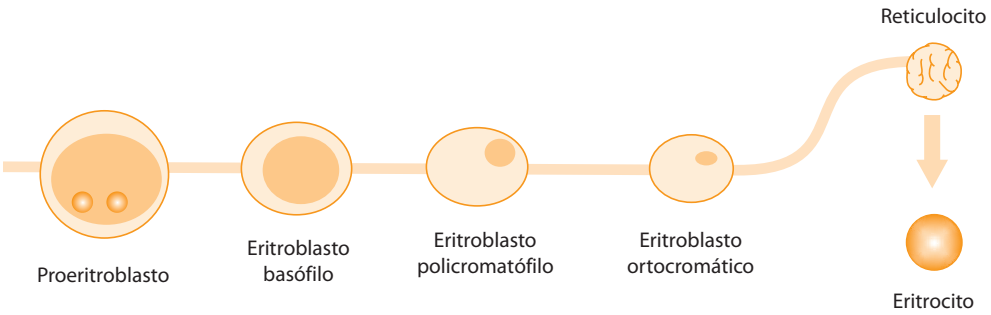


Figura 4-3. Representación de la eritropoyesis.

Reticulocito. Esta célula es un precursor del eritrocito y llega en esta forma a la sangre periférica después de vivir unos días en médula ósea. En esta etapa ha perdido el núcleo y las mitocondrias, pero posee cierta cantidad de RNA en su citoplasma antes de convertirse en eritrocito maduro y al colorearse adquiere una tonalidad azulada. El recuento de reticulocitos se utiliza como medida del número de células que libera la médula a la sangre (eritropoyesis eficaz), constituyendo esto un parámetro para medir la eficacia de un tratamiento con hierro, ácido fólico o vitamina B12, según el tipo de deficiencia diagnosticado. Los valores de referencia de los reticulocitos oscilan entre 0.5 y 1.5 % en los adultos y entre 2.5 y 6.5% en los recién nacidos (Aguilar, J.L., 2002).

La cantidad de reticulocitos aumenta cuando la médula responde a la anemia formando eritrocitos a un ritmo superior al normal (8% en adultos). Esta situación se puede presentar en hemorragias agudas o en hemólisis.

El número bajo de reticulocitos en un enfermo anémico es de mal pronóstico ya que significa que la médula ósea no tiene los nutrimentos necesarios para la eritropoyesis o se encuentra dañada por la acción de agentes infecciosos, fármacos o toxinas.

En el esquema del cuadro 4-1 se describen las características de las células precursoras de un eritrocito durante las diferentes etapas de su maduración en la meédula ósea.

Eritrocito. La maduración del reticulocito por pérdida de la sustancia reticular basófila da origen al eritrocito maduro. El eritrocito es un disco bicóncavo sin núcleo que tiene un diámetro aproximado de 7.8 $\pm$ 0.62 micrómetros y un espesor máximo de 2.5 $\pm$ 0.27 micrómetros y de 1 micrómetro o menos en el centro. Su volumen medio es de 94 $\pm$ 14 Fl (figura 4-4).

Recuento de eritrocitos. El número de eritrocitos en adultos normales es de 5 : 200 000/µL en varones y de 4 : 700 000/µL en mujeres.

La función principal de los eritrocitos es la entrega de oxígeno a los tejidos, así como auxiliar en el desecho del dióxido de carbono y protones generados durante el metabolismo tisular.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 4-1. Esquema de la eritropoyesis en médula ósea

Eritropotesis en médula ósea	**Proeritroblasto.** Es la primera célula eritroide que puede ser identificada morfológicamente y se caracteriza por ser una célula grande. Con un diámetro aproximado de 20 µm, es basófilo intenso por el alto contenido de RNA. Se aprecia la existencia de uno o más nucléolos. **Eritroblasto basófilo.** Es similar al proeritroblasto, con un núcleo algo menor y sin nucléolos. Tiene una alta concentración de citoplasma que contiene RNA. **Eritroblasto policromático.** Posee cierta cantidad de hemoglobina. Su tamaño es menor y el núcleo va disminuyendo también. Esta célula ya no sufre ninguna otra división y se transforma en eritoblasto ortocromático. **Eritroblasto ortocromático.** La coloración citoplasmática es similar a la de una célula adulta dada por la importante cantidad de hemoglobina que contiene, El núcleo es considerado picnótico. La maduración de esta célula consiste en la pérdida del núcleo y se transforma en reticulocitos. **Reticulocito.** Se caracteriza por poseer aún la capacidad de síntesis de hemoglobina. Son células mayores que los eritrocitos maduros (8 a 10 µm); viven de 2 a 4 días en la médula ósea y 1 día en sangre periférica (Vives, J., L. Aguilar, 2002.)

Para realizar su función, el eritrocito obtiene la energía de la glucólisis anaeróbica (cabe recordar que eritrocito no tiene mitocondria) y para ello depende de la glucosa y su membrana posee transportadores de alta afinidad para este azúcar.

En la glucólisis que se realiza en el eritrocito existe un compuesto que se forma del 1-3 difosfoglicerato: el 2-3 difosfoglicerato (2-3 DPG), el cual se ca-

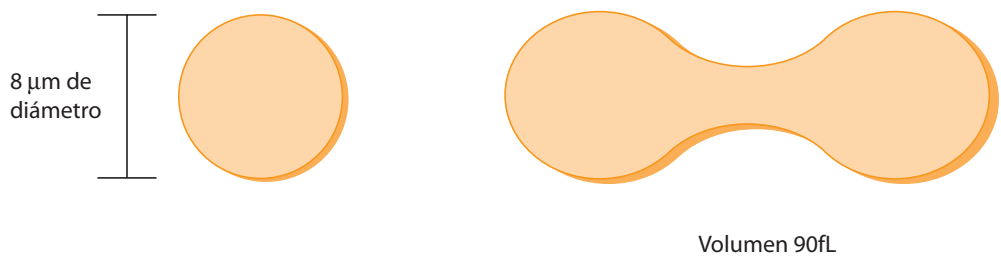


Figura 4-4. Morfología de un eritrocito maduro.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

taliza por la enzima adicional bifosfoglicerato mutasa. El compuesto 2-3 DPG, que se encuentra en grandes concentraciones en el eritrocito, se combina con la hemoglobina y provoca una disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno y éste es captado con mayor facilidad por los tejidos (Murray, 2004).

La vida media de los eritrocitos maduros es de aproximadamente 120 días, tiempo durante el cual envejecen y empieza una disminución de la actividad de diversas enzimas, hasta que son destruidos por células reticuloendoteliales fagocíticas del bazo mediante la hemólisis.

En la eritropoyesis intervienen minerales (hierro, magnesio, cobre, cinc), vitaminas (vitamina A, B_6, B_{12}, ácido fólico, vitamina C) y macronutrientes (proteínas).

Hemoglobina

Éste es el principal componente de los glóbulos rojos y es una proteína conjugada que sirve de vehículo para transportar oxígeno.

Una molécula de hemoglobina consta de dos pares de cadenas de polipéptidos (globina) y cuatro grupos prostéticos HEM, cada uno de los cuales contiene un átomo de hierro ferroso. Cada grupo HEM se combina de forma reversible con una molécula de oxígeno o dióxido de carbono.

La molécula del HEM (figura 4-5) se produce en la mayoría de las células aerobias de los mamíferos e incluye a los precursores de los eritrocitos, excepto cuando éstos ya han madurado.

En los seres humanos, la concentración de hemoglobina es alta al nacer, ya que se presenta una sobrecarga desde la vida fetal, necesaria para proveer una adecuada oxigenación en el útero. Posteriormente, estas cifras disminuyen rápidamente hasta alcanzar niveles normales.

CATABOLISMO DE LA HEMOGLOBINA

La bilirrubina es un producto del catabolismo del grupo HEM de la hemoglobina, cuya mayor proporción (85%) proviene de la destrucción de los eritrocitos envejecidos y el resto (15%) se origina por la destrucción de eritroblastos en la médula ósea. La hemoglobina liberada se fagocita por los macrófagos tisulares, también conocida como sistema reticuloendotelial (figura 4-6).

La hemoglobina se desdobla en globina y HEM. El anillo HEM se abre dando lugar a hierro libre (que se transporta en sangre ligado a transferrina) y a una cadena recta de núcleos pirrólicos que es el sustrato para la formación de bilirrubina.

El paso inicial es la oxidación del grupo HEM. Al desaparecer el hierro se denomina protoporfirina IX; en este proceso pierde su estructura cíclica para transformarse en tetrapirrol lineal (denominado biliverdina), que se reduce rápidamente para formar bilirrubina libre. Ésta se libera gradualmente desde

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

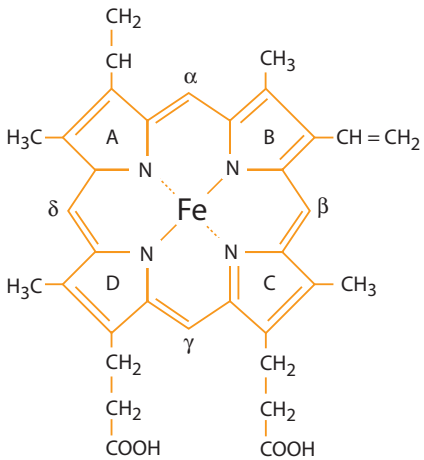


Figura 4-5. Estructura del grupo HEM.

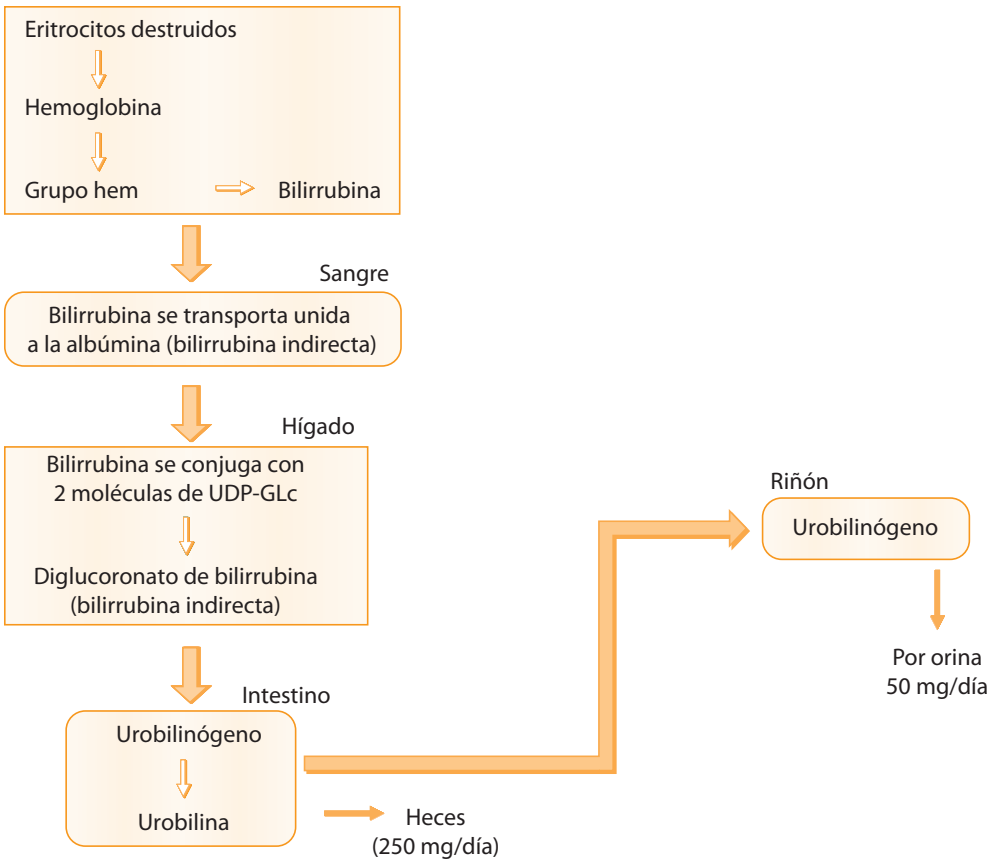


Figura 4-6. Esquema del metabolismo de la bilirrubina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

los macrófagos hacia el plasma. Estas reacciones tienen lugar en el sistema reticuloendotelial, predominantemente en hígado, bazo y médula ósea.

Bilirrubina indirecta

Este pigmento biliar, también llamado bilirrubina libre, se combina rápidamente mediante un fuerte enlace con la albúmina plasmática, transportándose así en sangre y líquidos intersticiales. Esta bilirrubina unida a la albúmina en el laboratorio clínico se le denomina bilirrubina indirecta (BI).

La bilirrubina libre se transporta por medio de la sangre hacia el hígado y en cuestión de hrs. es absorbida por las células hepáticas. En este proceso se libera de la albúmina y poco después se fija en el hepatocito, fundamentalmente a las proteínas (ligandina y proteína Z). Además de fijar la bilirrubina en el interior de las células, estas proteínas también son responsables de la desintoxicación de múltiples sustancias, entre ellas la misma bilirrubina.

Bilirrubina directa

La bilirrubina libre (indirecta) se torna hidrosoluble en el hígado debido a la conjugación con glucoronato para formar mono y diglucorónido. Esta reacción es catalizada por la enzima UDP-glucoronil-transferasa, produciéndose diglucorónido de bilirrubina. Por su comportamiento con la reacción de Van der Bergh se le denomina bilirrubina directa; de esta forma, mediante transporte activo hacia los canículos biliares, se excreta la bilirrubina.

Urobilinógeno

Cuando la bilirrubina ha arribado al intestino, la acción bacteriana la convierte en urobilinógeno, que es una sustancia muy soluble; una parte del urobilinógeno (estimada en 10% o más) se reabsorbe hacia la sangre y vuelve a ser excretada por el hígado. Por lo regular, pequeñas cantidades de urobilinógeno son excretadas por la orina (de 1 a 4 mg/24 h). Los niveles de urobilinógeno fecal en personas normales varían entre 50 a 250 mg/día. Parte del urobilinógeno es oxidado en el intestino y se transforma en urobilina, o bien se oxida después en las heces.

Aumento de la concentración de bilirrubina en sangre

El aumento de la bilirrubina en el torrente sanguíneo causa ictericia. La palabra *ictericia* significa color amarillo y es resultado de una anormalidad metabólica o de la retención de bilirrubina, la cual provoca una coloración amarillenta de la piel, las membranas mucosas y de la esclerótica. Con base en su localización, la ictericia puede clasificarse en tres tipos principales: prehepática, hepática y poshepática.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Ictericia prehepática. Ésta es resultado de una anemia hemolítica aguda o crónica, lo que da lugar a un aumento de la bilirrubina no conjugada o bilirrubina indirecta.

Ictericia hepática. También denominada ictericia fisiológica neonatal. Produce lesión o destrucción hepatocelular, así como trastornos en el metabolismo y en el transporte de la bilirrubina.

Ictericia posthepática. Estas enfermedades biliares son de naturaleza obstructiva y ocurren como consecuencia de la oclusión por cálculos o por neoplasias.

Diagnóstico diferencial entre ictericia prehepática y hepática

Si existe menos de 20% de bilirrubina conjugada corresponde a hemólisis. Si la bilirrubina directa constituye de 20 a 40% de la bilirrubina total, es probable que se deba a un proceso hepático. En presencia de más de 50% de bilirrubina directa debe presumirse colestiasis posthepática. Para determinar el tipo de ictericia pueden practicarse pruebas de laboratorio que permitan diferenciar la bilirrubina conjugada (bilirrubina directa) de la bilirrubina libre (bilirrubina indirecta) en el plasma.

Cifras de referencia de bilirrubina en suero

Bilirrubina directa	=	0.0 a 0.2 mg/dL	<7 mmol/L
Bilirrubina indirecta	=	0.2 a 0.7 mg/dL	<12 mmol/L
Bilirrubina total	=	< 1 mg/dL	< 17 a 20 mmol/L

MEDICIÓN DE BILIRRUBINA

Van den Bergh y Muller fueron los primeros científicos que demostraron la presencia de bilirrubina en el suero normal. Hallaron que ésta reaccionaba con el diazorreactivo de Ehrlich (ácido sulfanílico diazotizado). Posteriormente se observó que el pigmento de la bilis humana reaccionaba con el diazorreactivo sin adición de alcohol. Dicho pigmento se denominó bilirrubina directa y la bilirrubina que requería presencia de alcohol se designó fracción indirecta de la bilirrubina.

Características de la bilirrubina directa

- Se encuentra unida a dos moléculas de glucoronato.
- Molécula soluble en agua.
- Reacciona directamente con el reactivo de Van den Bergh.
- Cifras normales: 0.1 a 0.2 mg/dL.
- Sus cifras séricas aumentan en hepatitis e ictericia obstructiva.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Características de la bilirrubina indirecta

- Se encuentra en el plasma, unido a albúmina.
- Es una bilirrubina libre (no conjugada).
- Es una molécula soluble en alcohol.
- Tiene afinidad por el tejido cerebral.
- Cifras normales: 0.2 a 0.7 mg/dL.
- Sus cifras séricas aumentan en anemia hemolíticas.

Los métodos más utilizados son los de Malloy (1937), o modificaciones como las de Ducci y Watson o Michaelson (1961). En estos métodos la bilirrubina reacciona con el ácido sulfanílico diazotizado para formar azobilirrubina y la intensidad del color púrpura es proporcional a la cantidad de bilirrubina.

La lectura de la bilirrubina directa (BD) corresponde a la reacción bilirrubina + diazorreactivo, la cual se obtiene al minuto en el espectrofotómetro.

La lectura a los 30 minutos (agregando metanol) corresponde a la bilirrubina total (BT), la cual es la medición de bilirrubina directa + bilirrubina indirecta.

La diferencia entre la bilirrubina total y la directa (cálculo) corresponde a la bilirrubina indirecta (BI).

Bilirrubina urinaria

La presencia de bilirrubina en orina de pacientes con ictericia indica que la hiperbilirrubina es de tipo conjugado (directa), que se presenta en ictericia obstructiva.

Urobilinógeno fecal

Se localiza en heces de 40 a 280 mg/24 h. Se encuentra aumentado en anemias hemolíticas y disminuye de manera evidente en la ictericia obstructiva (posheпática) menos de 5 mg/día.

Urobilinógeno urinario

Sus cifras normales oscilan entre 0 a 4 mg/24 h. Se detectan cifras elevadas en la anemia hemolítica y se reporta ausencia en la ictericia obstructiva**.**

El urobilinógeno de la orina puede medirse con la sencilla prueba horas de Watson en 2 h, o con el reactivo de Ehrlich; las cifras normales en orina de 2 h deben ser de 1Ud. Ehrlich.

ANEMIA

Disminución de las cantidades de hemoglobina en la sangre de acuerdo con la edad, sexo y estatura. De acuerdo con el volumen corpuscular medio (VCM),

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

la anemia puede clasificarse como normocítica (VCM de 80 a 100 fl), microcítica (VCM menor de 80 fl) y macrocítica (mayor de 100fl) (cuadro 4-2).

Asimismo, y con base en la cantidad de hemoglobina del eritrocito, la anemia puede clasificarse en normocrómica (HCM normal), hipocrómicas (HCM disminuida) y polircrómicas (HCM aumentada).

Aunque las causas de la anemia son muy diversas, su mecanismo común es el desequilibrio entre la formación de eritrocitos por la medula ósea (eritropoyesis) y su eliminación por el sistema mononuclear.

La anemia se acompaña de una disminución del hematocrito y casi siempre del número de eritrocitos.

En forma concreta, puede decirse que la anemia se presenta por falla de producción de eritrocitos en la médula ósea y por aumento de la destrucción periférica de los eritrocitos (anemia hemolítica), que puede ser originada por causas adquiridas o congénitas.

Anormalidades de los eritrocitos en las diferentes clases de anemia

Cuando se observa al microscopio la morfología de los eritrocitos de pacientes con anemia, pueden presentarse las anormalidades que se describen a continuación:

- **Poiquilositosis.** Diferente forma.
- **Esquitocitos.** Fragmentos celulares de forma irregular que pueden encontrarse en casos de anemia hemolítica.
- **Eritoblasto.** Eritrocito joven nucleado.
- **Apilamiento de eritrocitos.** En el frotis de sangre se presenta como monedas apiladas (Reuleaux).

Otras anormalidades son las estructuras dentro del eritrocito, que en seguida se reseñan:

- **Punteado basófilo.** Gránulos irregulares que varían de finos a gruesos, de color gris negruzco. Se presenta en gran cantidad en la intoxicación por metales pesados (Pb, Ag, Hg).
- **Corpúsculos de Howel-Jolly.** Partículas lisas y redondas de color púrpura que se observan en la anemia megaloblástica y en la anemia hemolítica.

El cuadro 4-2 muestra la clasificación de la anemia según el VCM y los procesos patológicos en que se presenta.

Tipo de anemia y su diagnóstico por el laboratorio clínico

Anemia normocítica-normocrómica. Se presenta en la anemia hemolítica causada por defectos en los eritrocitos, la mayoría de origen hereditario, en la

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 4-2. Clasificación de la anemia según el VCM

MICROCÍTICA (VCM <80 fL)
Comúnmente hallada en:
- Deficiencia de hierro
- Talasemia
- Anemia renal (si existe ferropenia funcional)

MACROCÍTICA (VCM > 100 fL)
Comúnmente hallada en:
- Deficiencia de vitamina B_{12}
- Deficiencia de ácido fólico
- Asociada a hepatopatía crónica
- Procesos hemolíticos
- Hemorragia reciente

NORMOCÍTICA (VCM: 80 a 100 fL)
Comúnmente hallada en:
- Hiperproliferación
- Asociada a neoplasias
- Síndromes mielodisplásicos
- Hemólisis
- Hemoglobinopatía
- Posthemorragia aguda
- Asociada a enfermedades crónicas

que los eritrocitos son muy frágiles y se rompen fácilmente cuando atraviesan los capilares, sobre todo los del bazo (por ejemplo, esferocitosis hereditaria), en la anemia por sensibilización a fármacos o en la anemia hemolítica en que no hay defecto del eritrocito (por ejemplo, eritroblastosis fetal, anemia hemolítica adquirida y transfusión de sangre incompatible).

Diagnóstico de anemia hemolítica. Se inicia con los datos de una biometría hemática, prueba de la antiglobulina directa (prueba de Coombs) para demostrar la presencia de anticuerpos en la superficie del eritrocito (anemia hemolítica donde no hay defectos en la membrana). Medir concentración de bilirrubina indirecta (catabolismo de la porfirina). Concentración de urobilinógeno en orina, investigar hemoglobina en orina y otras pruebas específicas según el tipo de anemia hemolítica.

Anemia microcítica e hipocrómica. En esta clasificación se encuentra la anemia causada por deficiencia de hierro, siendo éste el tipo más común de anemia. La causa más frecuente de anemia ferropénica es la pérdida crónica de pequeñas cantidades de sangre, como sangrado del tracto digestivo (úlcera péptica, neoplasias, parásitos intestinales; en la mujer, la pérdida menstrual excesiva). Otra causa es la alimentación deficiente, en especial baja en hierro, a lo que se suma el aumento de las necesidades, que actúan como factor coadyuvante a la deficiencia, como en los niños (6 a 24 meses), en los adolescentes (crecimiento rápido) y en el embarazo.

El diagnóstico se obtiene mediante biometría hemática, en la que se detecta concentración de hemoglobina menor de 10 g/dL (mujer), el VCM disminuido

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

(microcitosis) por debajo de 70 fL, disminución de la HCM menor a 27 pg; en el frotis de sangre teñida se observan eritrocitos anormales con hipocromía, microcitosis y anisocitosis. La cuenta de reticulocitos normales y datos más específicos (indicadores de hierro) tales como la medición de hierro sérico y el porcentaje de saturación de transferrina por debajo de las cifras de referencia; la capacidad de fijación de hierro (CTFH) presenta valores aumentados y la ferritina sérica arroja cifras menores a 12 pg/dL, siendo esta proteína la primera que presenta disminución.

Anemia macrocítica. Dentro de este grupo se encuentran la anemia megaloblástica y la anemia perniciosa. Este tipo de anemia se presenta cuando existe deficiencia de uno de los factores esenciales para la maduración adecuada de las células nucleadas rojas. Estos factores son la vitamina B_{12} y el ácido fólico.

La deficiencia de vitamina B_{12} (cianocobalamina) produce alteración en la síntesis de ácidos nucleicos así como una maduración defectuosa de los núcleos celulares y de la célula roja en general.

El ácido fólico pteroilglutámico se presenta en forma activa como tetrahidrofolato (THF) y funge como coenzima en diversas reacciones bioquímicas, una de las cuales es la formación de grupos metilo, necesaria en la elaboración de la timidina de los ácidos nucleicos.

Diagnóstico. En el estudio de biometría hemática se encuentran cifras disminuidas de hemoglobina. Los valores de los índices eritrocíticos (VCM y HCM) aparecen aumentados (VCM más de 96 fL y HCM más de 33 pg).

El CMHC se encuentra normal (32 a 36 g/dL); además, en el frotis de sangre se observan eritrocitos de mayor tamaño con anisocitosis y poiquilocitosis. También afecta la maduración de los leucocitos y plaquetas, presentándose leucopenia (cifras disminuidas de leucocitos).

LEUCOPOYESIS

Morfología cinética, función y cifras normales de los leucocitos maduros en la sangre

Los leucocitos (únicas células sanguíneas con núcleo) son células móviles del sistema protector del organismo; se forman en la médula ósea, después pasan a la sangre y de ahí a las diferentes partes del organismo, donde ejercen su función. El valor fundamental de los leucocitos estriba en que son transportados específicamente a zonas donde hay inflamación, proporcionando así una defensa rápida y enérgica contra cualquier posible agente infeccioso.

Hay cinco clases de leucocitos maduros en sangre:

Proveniente de la CFU-G	Neutrófilos en banda	Neutrófilos segmentado
Proveniente de la CFU-Eo	Eosinófilo	
Proveniente de la CFU-Bas	Basófilo	
Proveniente de la CFU-M	Monocito	
Proveniente de la CFU-L	CFU-B, CFU-T-	Linfoncito B, T

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

GRANULOCITOS NEUTRÓFILOS (PMN)

Morfología. Los neutrófilos tienen un diámetro medio de 12 micrómetros; el núcleo se tiñe de color intenso púrpura con el colorante de Wright. La forma del núcleo es irregular y adquiere formas que pueden compararse con las letras E, Z y S. En las formas jóvenes, el núcleo tiene forma de banda y al madurar o envejecer presenta lóbulos (de 2 a 5) unidos por puentes de cromatina. El citoplasma es incoloro y presentando las siguientes granulaciones:

Gránulos específicos	Lactoferrina, Colagenasa, Muraminidasa, Peroxidasa
Gránulos azurófilos	Proteínas catiónicas antibacterianas, Fosfatasa ácida
Gránulos terciarios	Enzimas lisosómicas, Fosfatasa alcalina, Gelatinasa

Función. Los neutrófilos son células maduras que pueden atacar y destruir.

Éstos pueden atravesar los poros de los vasos sanguíneos por un proceso llamado diapédesis; después se desplaza a través de los tejidos con un movimiento denominado ameboideo a una velocidad de hasta 40 micrómetros/mm. Cuando un tejido se inflama, varios productos pueden causar quimiotaxis, haciendo que los neutrófilos se aproximen al área inflamada. Estos productos pueden ser algunas toxinas bacterianas, productos de degeneración de los tejidos inflamados, varios productos de reacción del complejo de complemento, así como diversas sustancias reactivas que son producidas por la coagulación del plasma en el área inflamada. Después se presenta adherencia y fagocitosis para destruir y digerir al agente invasor.

Cuando los neutrófilos encuentran una partícula, se fusionan a ésta por medio de un seudópodo y la partícula queda englobada como fagosoma. El mecanismo antimicrobiano de los neutrófilos funciona mediante la descarga de los constituyentes de los gránulos dentro del fagosoma y de la transformación del oxígeno en productos tales como superóxidos y peróxido de hidrógeno con marcada actividad antimicrobiana.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cinética de los neutrófilos

La distribución de los neutrófilos se realiza en la médula ósea, la sangre y los tejidos.

El compartimiento medular puede dividirse en mitótico, con capacidad de replicación, e incluye mieloblastos, promielocitos y mielocitos; existe otro compartimiento de depósito y maduración que incluye metamielocito, banda y segmentados.

El neutrófilo llega a la sangre en 14 días y se acomoda en diferentes sitios y aproximadamente la mitad se adhiere a la pared endotelial y la otra mitad circula de manera libre por el torrente sanguíneo.

El tiempo promedio de desaparición de los neutrófilos es de 6 a 8 h. Pasan a los tejidos y, si no se utilizan en el exudado inflamatorio, se eliminan en pocos días mediante las secreciones salivales y bronquiales en el tracto gastrointestinal, o en las vías urinarias, o son destruidos por el sistema reticuloendotelial.

Cifras normales. Los neutrófilos son los más abundantes de los leucocitos circulantes, pues representan de 50% a 70% del total de éstos. También pueden representarse en números absolutos, ya que sus cifras normales son de 2 000 a 7 000 µL. Por ejemplo, un paciente con un total de 8 000 leucocitos por µL puede reportar 60% de neutrófilos, lo que equivale a 4 800 neutrófilos por µL, cifra considerada como normal. Si las cifras son inferiores a 2 000 µL se denomina neutropenia y si es superior a 7 000 µL se trata de neutrofilia (Hilman, 1998).

GRANULOCITOS EOSINÓFILOS

Morfología. Mide 13 micrómetros de diámetro y presenta grandes granulaciones en el citoplasma, redondas y con afinidad por los colorante ácidos (eosina) de color rojizo. Su citoplasma es incoloro o débilmente azul celeste; el núcleo se tiñe con menor intensidad que el neutrófilo y se presenta en dos segmentos.

Los gránulos específicos de los eosinófilos contienen proteínas básicas mayores en el núcleo cristaloide; éstos son tóxicos para los parásitos y las células neutralizan la heparina e inducen la liberación de histamina por parte de los basófilos.

Estos gránulos de la matriz contienen hidrolasas ácidas, peroxidasa, fosfolipasa y catepsina. Los gránulos específicos también contienen una proteína catiónica, una neutrotoxina y proteína X; los gránulos pequeños contienen peroxidasa y fosfatasa ácida.

Función. Los eosinófilos también contienen sustancias que inactivan los factores liberados por los basófilos y los mastocitos, así como la histamina y el factor activador de plaquetas.

Las dos proteínas mayores de los gránulos del eosinófilo son la proteína básica mayor y la proteína catiónica. La proteína básica mayor es tóxica para los

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

helmintos y los eosinófilos son las células efectoras principales de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos frente a infecciones por helmintos.

Cinética. Los eosinófilos se producen en la médula ósea iniciando su formación con la Unidad formadora de colonias eosinófilas (UFC-EO) siendo activada la proliferación y diferenciación de colonias eosinófilas por el Factor estimulador de colonias (FEC) y por las interleucinas 5 las que son producidas por los linfocitos T.

El primer precursor de forma reconocible es el mielocito eosinófilo. La célula madura es el eosinófilo, que permanece 8 h en la sangre para después emigrar hacia los tejidos (piel, pulmones tubo gastrointestinal) que forman barreras epiteliales frente al mundo exterior.

Cifras normales. Representan de 2 a 5% de todos los leucocitos. En cifras absolutas, en promedio son 350 μL.

BASÓFILOS Y MASTOCITOS

Posiblemente representan células de una misma familia. Los basófilos se encuentran en la sangre circulante y los mastocitos en los tejidos, especialmente en aquellos más ricos en tejido conectivo como la glándula mamaria, la lengua, la próstata, los pulmones y el peritoneo.

Los basófilos son células que se producen en la médula ósea de la célula madre multipotencial mieloide (CFU-GEMM).

Morfología. Los basófilos miden 12 micrómetros de diámetro y se caracterizan por la presencia en su citoplasma de numerosos gránulos redondos que miden en promedio 0.5 micrómetros, los que con colorantes básicos se tiñen de púrpura. Esta coloración se debe a la presencia de los gránulos de heparina.

Cinética. Su producción es semejante a la de los eosinófilos y su permanencia en la médula ósea es de unos 7 días. Su vida media es parecida a la de los neutrófilos y en condiciones normales no se les encuentra en tejidos.

Función. Las cifras de basófilos aumentan en respuesta a los corticoides suprarrenales. Estas células sintetizan gránulos que contienen histamina, heparina y peroxidasa. Los basófilos sintetizan y almacenan histamina y factor quimiotáctico eosinófilo de la anafilaxia (FQE-A). La estructura de los mastocitos es diferente, tienen características citoquímicas similares y además contienen enzimas proteolíticas y de serotonina.

Ambas células intervienen en las reacciones de hipersensibilidad inmediata, como el asma alérgica. La inmunoglobulina E (regina) se une fuertemente con las membranas del basófilo y del mastocito. Cuando un antígeno específico reacciona con la IgE fijada a la membrana, se produce desgranulación con liberación de mediadores de hipersensibilidad inmediata, como histamina, heparina, factor activador de plaquetas (FAP) y factor quimiotáctico eosinófilo de la anafilaxia (FQ E-A). Esto conduce a la acumulación de eosinófilos, que contienen sustancias que tienden a contrarrestar la acción de los basófilos.

Las cifras promedio de los basófilos en sangre es de 0.5% del total de leucocitos y las cifras absolutas son de 0 a 150 μL/L.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

MONOCITOS Y MACRÓFAGOS

Los monocitos comparten la misma célula progenitora diferenciada de los neutrófilos (CFU-GM). Sus precursores so: monoblasto, promonocito y monocito.

Morfología. Esta es la célula más grande de la sangre periférica pues mide de 15 a 20 micrómetros. El núcleo es grande, ligeramente excéntrico, irregular, en forma de herradura. El citoplasma es abundante, de color azul grisáceo pálido; sus abundantes gránulos azurófilos finos contienen hidrolasa ácida, arisulfatasa y peroxidasa.

Cinética. Los promonocitos experimentan dos divisiones mitóticas antes de ser liberados a la sangre. Pero en condiciones en las que se requiere más monocitos, estas divisiones pueden ser incompletas y llegar inmaduras a sangre periférica. Su vida media en la sangre es de 8.4 h; este periodo es menor en algunas patologías, como la esplenomegalia y las infecciones agudas. Después de abandonar la sangre, viven varios meses en la fase hística (tejidos) como macrófagos o histiocitos.

Son células fagocíticas mononucleares que constituyen el tercer tipo de células implicadas en la respuesta inmunitaria. Se denominan células presentadoras de antígeno y en su ausencia la respuesta inmunitaria se anula.

Su papel consiste en procesar y presentar al antígeno para su reconocimiento por la célula T en forma de molécula inmunogénica reconocible; también los linfocitos B pueden ejercer esta función, así como las células dendríticas o las células de Lagerhans. Tras ser activado, el macrófago secreta moléculas biológicamente activas importantes para el desarrollo de la respuesta inmunitaria, denominadas monoquinas, entre las que se encuentra la interleucina-1 (IL-1). También pueden desarrollar una función citotóxica, con mediación del anticuerpo.

De lo anterior se deduce que el sistema mononuclear fagocítico desempeña un importante papel en la defensa y vigilancia del huésped y en el control de la hematopoyesis.

Las cifras normales de monocitos en sangre son de 2 a 8% del total de leucocitos y en cifras absolutas es de 0 a 800 µL.

LINFOCITOS

Las principales células del sistema de defensa que actúa en la inmunidad específica y que inician la respuesta inmune son los linfocitos. Éstos son responsables de la inmunidad celular y humoral. De acuerdo con Denning (1988), durante la vida fetal se originan precursores de linfocitos en la médula ósea, los cuales tienen diversas funciones: linfocitos T y linfocitos B.

Morfología. Los linfocitos maduros son células esféricas que miden de 8 a 10 micrómetros de diámetro; el núcleo ocupa 90% del volumen de la célula y está formado por densos grumos de cromatina que se tiñen intensamente de

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

púrpura. El citoplasma de la célula es delgado y forma un anillo azul alrededor del núcleo.

Desarrollo de linfocitos T. Los protimocitos migran desde la médula ósea o el hígado fetal hasta el timo, donde son procesados a células T funcionalmente maduras para circular en la sangre hasta los tejidos linfoides periféricos o secundarios.

El timo humano posee dos estructuras: la corteza y la médula. La corteza es subcapsular e interna y la médula está compuesta por células epiteliales con pequeñas cantidades de linfocitos.

La diferenciación de los linfocitos T se debe a las hormonas tímicas (timosina y timopoyetina) que actúan sobre la subpoblación de células T. Estas células se caracterizan por sus glucoproteínas de superficie (CD3, CD4 y CD8), las cuales reaccionan con anticuerpos monoclonales específicos.

Las células T constituyen una población heterogénea de linfocitos. Se diferencian en el timo bajo la influencia directa de las células epiteliales tímicas y posiblemente por la acción de hormonas tímicas. Los linfocitos son responsables de varias funciones del sistema inmunitario en trasplantes, en las reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado y en las respuestas de linfocitos B (donde regulan su acción), entre otras.

Cuando son estimuladas por el antígeno (presentado por la célula presentadora de antígeno, que generalmente es un macrófago), proliferan y son activadas para ejercer sus funciones.

Durante la maduración en el timo, los precursores de las células T desarrollan una serie de marcadores de membrana que permiten su identificación y la evaluación de su grado de madurez. Así, el marcador para las células T facilitadoras es la molécula CD4 y para los linfocitos T supresores/citotóxicos lo es la molécula CD8.

Cuando son estimulados por el antígeno, algunos linfocitos T poseen receptores para distintos isótopos de inmunoglobulinas (FcR). Por otra parte, el linfocito T posee un receptor (TCR), que reconoce al antígeno de forma específica. El receptor está formado por dos cadenas polipeptídicas que contienen regiones constantes y variables, similares a las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas. Estos receptores se encuentran asociados al complejo CD3.

Función de los linfocitos T. Estos linfocitos se desempeñan principalmente en los procesos de inmunidad celular.

Los linfocitos CD4 manifiestan las siguientes funciones de colaboradoras o efectoras (figura 4-7):

1. Ayudan a las células B a evolucionar a células plasmáticas productoras de anticuerpos.
2. Estimulan a las células T a exhibir efectos citotóxicos.
3. Ayudan a las células T a convertirse en células supresoras.
4. Efectúan reacciones de hipersensibilidad retardada.

Las células CD4 constituyen alrededor de 65% de linfocitos T periféricos y predominan en la médula tímica, las amígdalas y la sangre. Son citotóxicas para

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

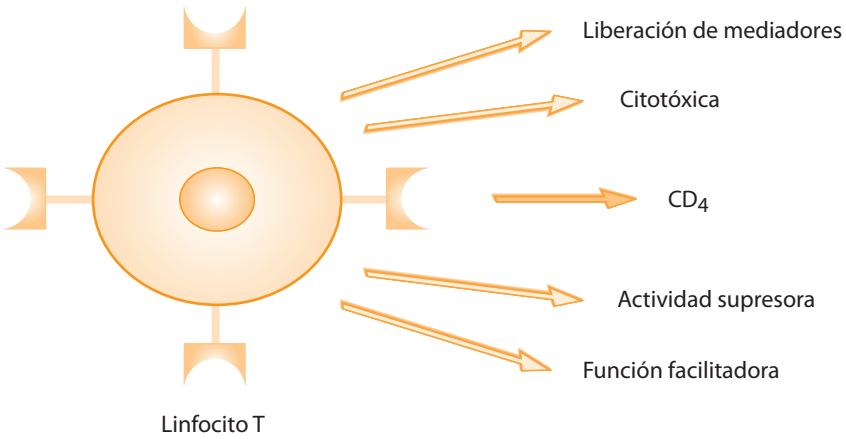


Figura 4-7. Representación de linfocitos T y sus funciones.

células infectadas por virus, células tumorales o de aloinjertos; suprimen la producción de inmunoglobulinas por las células B; y suprimen las reacciones de hipersensibilidad retardada y la inmunidad célula.

Los linfocitos CD8 manifiestan funciones citotóxicas y supresoras**.**

Linfocitos B

Se originan a partir de células progenitoras de la médula ósea. Son capaces de sintetizar todas las clases de inmunoglobulinas circulantes. Tras la exposición al antígeno y en presencia de células T, proliferan y se diferencian en células plasmáticas secretoras de anticuerpos. Durante el proceso de maduración, presentan inmunoglobulinas en su membrana que fungen como receptores de superficie (IgM e IgG).

Cuando se desarrolla una respuesta inmunológica específica frente a un antígeno, se produce un cambio en la inmunoglobulina sintetizada, de tal forma que las células B que inicialmente expresan en su superficie IgM e IgG, tras madurar expresan IgG, IgA o IgE. Al activarse la estimulación de los linfocitos B por un antígeno, estas células son denominadas células plasmáticas y darán lugar a la formación de inmunoglobulinas específicas para ese antígeno. Las células plasmáticas productoras de anticuerpos tienen una vida media corta. Otras células generadas bajo el estímulo antigénico quedarán como células memoria para posteriores respuestas frente al mismo antígeno.

Durante la vida adulta, la generación de las células B se produce en la médula ósea. Una célula madre da lugar a la primera célula B reconocible, llamada precélula B; esta célula se trasforma en célula B.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cada linfocito B está programado para sintetizar anticuerpos específicos. Este anticuerpo se encuentra en su superficie y será el encargado de reconocer al antígeno (receptor inmunoglobulínico) de forma única, de manera que el antígeno sólo se unirá y activará a aquel linfocito B que posea en su superficie el anticuerpo específico para el antígeno.

Los linfocitos B que han reconocido el antígeno son estimulados para proliferar y diferenciarse en células plasmáticas secretoras de anticuerpos y en células de memoria, todas ellas con la misma especificidad de la célula originaria que reconoció al antígeno.

La función de los linfocitos B y su progenie es participar en la inmunidad humoral o en la producción de anticuerpos.

Cinética. La mayoría de los linfocitos de la circulación son células T que tienen un promedio de vida de meses a años. Las células B constituyen una población menor de 10 a 20% de los linfocitos y probablemente una vida de días y se distinguen por una cantidad considerable de inmunoglobulinas sobre la superficie de sus membranas.

Cifras normales de linfocitos totales. Las cifras de linfocitos totales es de 20 a 40% de los leucocitos totales en circulación. En cifras absolutas esto corresponde de 1 500 a 4 000 μL/L linfocitos en circulación.

Células NK (*natural killers*). Estas células son citotóxicas y se especializan en la lisis de células tumorales y de células infectadas por virus, lo que realizan sin necesidad de anticuerpos. La actividad de las células NK aumenta en forma notable por la presencia del interferón gamma.

PLAQUETAS O TROMBOCITOS

Las plaquetas se originan a partir de megacariocitos, que son células extremadamente grandes en la médula ósea. Los megacariocitos surgen de la célula madre hematopoyética multipotencial y después de una célula progenitora comprometida: la UFC-Meg. Según estudios *in vitro* e *in vivo,* es probable que la proliferación megacariocítica esté regulada al menos por dos factores humorales: un factor (FEC-Meg) que induce la proliferación de la UFC-Meg y un factor de tipo trombopoyetina que estimula la diferenciación y maduración de los megacariocitos.

Precursores. Megacarioblasto, promegacariocito, megacariocíto granular y megacariocito maduro; se libera a la sangre periférica como plaquetas.

Cinética. En la médula ósea requieren de 5 días para madurar y tienen una vida media de 8 a 11 días en circulación. Las dos terceras partes del total de las plaquetas están en circulación y una tercera parte se encuentra en el bazo.

Función. Su principal función es el mantenimiento de la integridad de los vasos sanguíneos, ayudando en la formación del trombo plaquetario para interrupción inicial de la hemorragia y durante el proceso promueve la coagulación de factores plasmáticos.

Las cifras normales de plaquetas son de 130 000 a 400 000 μL (Gil, 2003).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

EJERCICIO

Hematología

1. ¿Cuáles son las células precursoras de los eritrocitos? _____
2. Cite cuáles son los órganos hematopoyéticos. _____
3. ¿Cuál es el porcentaje de reticulocitos que llega diariamente a la sangre periférica?

_____

4. Describa las características morfológicas de un reticulocito.

_____

5. Describa la manera como se mide la eritropoyesis. _____
6. ¿Cuáles son las vías metabólicas por las que el eritrocito toma energía?

_____

7. Describa la función del compuesto 2-3 difosfoglicerato (2-3DFG) en el eritrocito.

_____

8. ¿Cuáles son los datos que se reportan en un estudio de serie roja en una BH?

_____

9. Cite cuatro anormalidades de los eritrocitos que se presentan en la anemia.

_____

10. Describa cómo se interpreta la gráfica o histograma de los eritrocitos (RDW).

_____

11. ¿Cuáles son las vitaminas que intervienen en el proceso de síntesis de los eritrocitos?

_____

12. Describa la función de la eritropoyetina.

_____

13. Defina qué es el compuesto de diglucoronato de bilirrubina y sus funciones.

_____

14. Describa de dónde proviene la molécula de bilirrubina y su función.

_____

15. Escriba los indicadores de hierro y los criterios que se utilizan para efectuar el diagnóstico de anemia ferropénica.

_____

16. ¿En qué procesos patológicos disminuye la concentración de hierro sérico?

_____

17. Calcule el porcentaje de saturación de hierro si el paciente tiene 100 μg/dL de hierro sérico y 320 μg/dL de TIBC.

_____

18. ¿Cómo se denomina la etapa de deficiencia de hierro cuando se presenta disminución de ferritina sérica y aumento de protoporfirina eritrocítica?

_____

19. Describa las características morfológicas de un eritrocito que presenta deficiencia de G-6-PD (deshidrogenasa de glucosa 6 fosfato enzima eritrocítica).

_____

20. ¿Cuál es la utilidad diagnóstica del estudio de sedimentación globular?

_____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Ejercicio de serie blanca. Datos de un estudio diferencial de leucocitos

Complete los siguientes cuadros:

21. Paciente: niño

Edad: 1 año

Cuenta leucocitaria total	**12 000 µL**		**Cifras normales**
Estudio diferencial de leucocitos		Cifras absolutas	
Neutrófilos en banda	2%		
Neutrófilos segmentados	30%		
Neutrófilos	32%		
Eosinófilos	3%		
Basófilos	0.5%		
Monocitos	5%		
Linfocitos	59.5%		
Plaquetas		210 000 µL	

22. Paciente varón

Edad: 21 años

Cuenta leucocitaria total	**8 000 µL**		**Cifras normales**
Estudio diferencial de leucocitos		Cifras absolutas	
Neutrófilos en banda	1%		
Neutrófilos segmentados	67%		
Neutrófilos	68		
Eosinófilos	2%		
Basófilos	0%		
Monocitos	8%		
Linfocitos	22%		
Plaquetas		260 000 µL	

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

23. Paciente mujer

Edad: 45 años

Cuenta leucocitaria total	16 000 µL		Cifras normales
Estudio diferencial de leucocitos		Cifras absolutas	
Neutrófilos en banda	15%		
Neutrófilos segmentados	60%		
Neutrófilos	75%		
Eosinófilos	3%		
Basófilos	0.5%		
Monocitos	5%		
Linfocitos	26.5%		
Plaquetas		390 000 µL	

24. Investigue el significado de los siguientes términos:

- Trombocito _____
- Leucopenia _____
- Linfocitosis _____
- Neutrofilia _____
- Neutropenia _____
- Trombocitosis _____
- Trombopenia _____
- Megacarocito _____
- Quimotaxis _____

25. Escriba los nombres de los precursores de los granulocitos neutrófilos. _____

26. ¿Cuál es la vida media de los leucocitos en sangre periférica? _____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

27. ¿Cuál es la vida media en la sangre periférica de las plaquetas?

28. Describa las funciones de inmunidad de:

- Monocitos
- Linfocitos TCD4
- Linfocito B
- Neutrófilo segmentado /banda
- Eosinófilo
- Basófilo

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19ª edición. Masson. 2002. pp. 155, 162, 164, 166.

Gil, José Luis: *Hematología sin microscopio*. Masson. España. 1999. pp. 12, 67, 86.

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Madrid. Ed. McGraw-Hill Interamericana de España. 1998. pp. 445-454.

González de Buitrago J.M: *Técnicas y métodos de laboratorio clínico*. 2ª edición. Masson. España. 2004. pp. 275-286.

Guyton, M.D., Arthur C. Hall, Ph. D., John E: *Tratado de fisiología médica*. 10ª edición. McGraw-Hill Interamericana. pp. 471, 472, 964-966.

Hillman S. Robert (*et al*): *Manual de hematología*. México. Ed. El Manual Moderno. 1998. pp. 3-27, 44, 56-58, 148-157.

Janeway Jr. Charles (*et al*): *Inmunobiología*. 2ª edición. Ed. Masson. España. 2003. pp. 4-5.

Mongomery Rex (*et al*): *Bioquímica. Casos y textos.* Ed. Harcourt Brace. España. pp. 92-94,108.

Morrison Treseler Kathleen: *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico*. México. Ed. El Manual Moderno. 1998. pp. 79-85, 99, 100.

Oehling A: *Alergología e inmunología clínica*. Fundamentos *de la respuesta alérgica.* McGraw-Hill Interamericana. pp. 13-24, 113.

Ruiz Argüelles G.J: *Hematología*. 3ª edición. Ed. Médica Panamericana. México. 2000. pp. 29-60, 64.

Vives Joan, Luis Aguilar, Joseph Luis: *Manual de técnicas de laboratorio en hematología*. 2ª edición. Masson. España. 2002. pp. 70-74, 78-84.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 5

Indicadores hematológicos

La deficiencia de este elemento es la insuficiencia nutricional más común de nuestro país, siendo los más afectados las mujeres y los niños.

Los indicadores de hierro pueden obtenerse mediante el estudio de biometría hemática (BH), el cual se realiza en sangre completa (sangre obtenida con el anticoagulante EDTA-K). Es importante interpretar correctamente los datos que se estudian en una BH porque con ellos puede evaluarse el estatus del hierro en el organismo.

El hierro es un componente esencial de la hemoglobina y además desempeña un papel fundamental en múltiples reacciones enzimáticas del metabolismo.

Los datos que proporciona la determinación de una BH están relacionados con los eritrocitos (serie roja), los leucocitos (serie blanca) y las plaquetas.

SERIE ROJA

El estudio de los eritrocitos se realiza de manera automatizada con contadores de partículas, lo que ha contribuido a que se realice con gran rapidez y confiabilidad.

El recuento de los eritrocitos se realiza mediante aparatos de citometría de flujo basados en métodos de resistencia eléctrica o dispersión de luz, en los cuales puede medir se el tamaño, el volumen y otras propiedades físicas de los eritrocitos al encontrarse suspendidos en un medio líquido.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Hemoglobina

La medición de la hemoglobina en sangre es el dato más importante para el diagnóstico de anemia. Para ello se recomienda utilizar el método de la cianometahemoglobina (HiCN), considerado como el método de referencia aceptado por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Esta medición se fundamenta en que el color de la hemoglobina se mide por espectrofotometría, al agregarse el reactivo de ciano-metahemoglobina.

Hematócrito

Porcentaje de eritrocitos en un volumen dado de sangre completa. Esta medición no puede realizarse en un citómetro de flujo en forma automatizada debido a que este instrumento calcula el valor de hematócrito relacionando el número de eritrocitos con la concentración de hemoglobina.

Técnica

Se utilizan tubos capilares de 7 cm de longitud con un orificio de 1 mm, el cual se llena de sangre por atracción capilar y cuyo extremo es sellado con plástico moldeable. Los tubos llenos se colocan en los canales o surcos radiales del aparato de centrifugación, aplicando 5 000 a 10 000 g (fuerza centrífuga relativa) por 5 minutos y el resultado se lee con una regla milimétrica graduada de 0 a 100.

Cifras normales: de 40 a 57% en varones (2.09 a 2.79 m.mol/L)
de 37 a 49% en mujeres (1.86 a 2.79 m.mol/L)

De esta forma se obtienen datos muy exactos, así como de manera rápida y económica.

ÍNDICES ERITROCITARIOS

Volumen corpuscular medio (VCM)

Esto se refiere al volumen medio de los eritrocitos individuales en micrómetros cúbicos.

Este dato forma parte de los índices eritrocíticos que se obtienen por citometría de flujo y se mide en femtolitros (fL), siendo un dato indispensable para clasificar el tipo de anemia que presenta el paciente, e indica si los eritrocitos son microcíticos, macrocíticos o normocíticos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Si el estudio de la biometría memática se realiza en forma manual, éste no es un dato fidedigno ya que se obtiene por cálculo (cuadro 5-1.)

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hematócrito} \times 10}{\text{número de eritrocitos (m/}\mu\text{L)}}$$

Cifras normales 90 ± 8 fL (femtolitro)

Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Esto constituye el contenido (peso) de hemoglobina en el promedio de eritrocitos. Este índice eritrocítico apoya la clasificación realizada con el dato de VCM; representa la hemoglobina contenida en cada eritrocito, su medición se realiza en el aparato de citometría de flujo y se expresa en picogramos (pg). Este índice eritrocítico sólo tiene validez si fue realizado por citometría de flujo.

El HCM se calcula a partir de la concentración de hemoglobina y el recuento de eritrocitos.

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hemoglobina}}{\text{número de eritrocitos (m/}\mu\text{L)}}$$

Cifras normales = 27 a 33 pg (picogramos)

Cuadro 5-1. Datos de una serie roja

Serie roja	Recién nacido	Niños (2 a 12 años)	Adultos	
			Varones	Mujeres
Cuenta de eritrocitos (RBC)	10^6/mL	10^6/mL	10^6/mL	
	4.1 a 6.1	4.0 a 4.7	4.5 a 6.2	4.0 a 5.0
Hemoglobina (Hb)	15.5 a 24.5 g/dL	10.7 a 15.5 g/dL	14 a 18 g/dL	12 a 16 g/dL
Hematocrito (Hto)	36%	34%	40 a 54%	37 a 47%
VCM	106 fL	80 fL	82 a 93 fL	82 a 93 fL
HCM	38 pg	26 pg	26 a 34 pg	26 a 34 pg
CMHC	36%	34%	33%	33%
ADE-VCM (RDW)	11.5 a 14%	11.5 a 14%	11.5 a 14%	11.5 a 14%

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Concentración de la hemoglobina corpuscular (CMHC)

Esto significa la concentración media de hemoglobina en un volumen determinado de concentrado de eritrocitos y se calcula a partir de la concentración de la hemoglobina y el hematócrito.

$$\text{CMHC} = \frac{\text{Hemoglobina (g/L)}}{\text{hematócrito L/L}}$$

Cifras normales = 32 a 36 g/DL

Para que estos índices eritrocitarios sean útiles en la evaluación de indicadores de hierro o para el diagnóstico de anemia, deben tomarse en cuenta sólo cuando son medidos por métodos electrónicos (por ejemplo, citometría de flujo).

Amplitud de distribución eritrocitaria (RDW o ADE)

La finalidad del estudio de citometría de flujo es registrar un histograma con el recuento diferencial de VCM, así como su grado de dispersión. Estos índices eritrocíticos no pueden ser obtenidos en forma manual ni por cálculo. En este estudio se pueden obtener los diferentes volúmenes y valorar los diversos tamaños de los eritrocitos (anisocitosis), así como graficar en un histograma la frecuencia del volumen corpuscular medio (VCM). La figura 5-1 ilustra el histograma de un paciente normal con un VCM de 90 fL y un ADE-VCM de 11.5% (cifras de referencia: RDW normal = 11.5 a 14.5 %).

Otros instrumentos no tienen la capacidad de graficar el histograma y sólo reportan el dato de ancho de distribución de eritrocitos (ADE), o RDW (siglas en inglés de *Red Cell Distribution Width*).

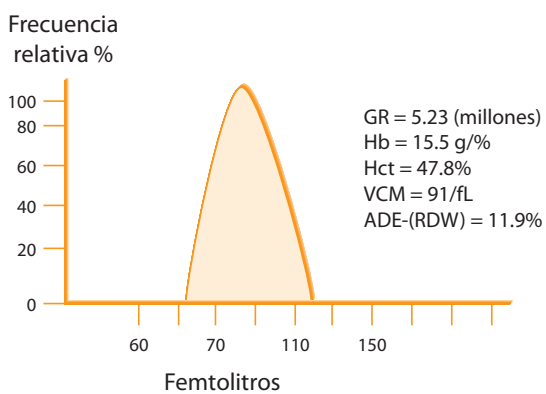


Figura 5-1. Histograma normal.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

En esta gráfica se representa el VCM en las abscisas, expresado en femtolitros. En las ordenadas se representa la frecuencia en que se presentan los volúmenes (número de eritrocitos en los que predomina el VCM), expresada en porcentaje. En el cuadro 5-1 aparecen los datos de un estudio de serie roja y su variación en las diferentes etapas de la vida; además, se observan los cambios que se presentan en cada sexo y edad, así como la influencia de ciertas causas fisiológicas como el embarazo, que produce disminución de cinc, la cuenta de eritrocitos, hemoglobina, hematocrito y VCM. Para efectos de este ejercicio estos datos fueron aumentados.

Los datos de la serie roja son de gran utilidad para evaluar el hierro en el organismo y también apoya para el diagnóstico de anemia.

En la figura 5-2 se pueden observar las principales moléculas que participan en el metabolismo del hierro y que son utilizadas como indicadores para valorar el hierro del organismo.

INDICADORES DE HIERRO

Datos de una biometría que son utilizados como indicadores de hierro:

- Hemoglobina.
- Hematócrito.
- VCM.
- HCM.

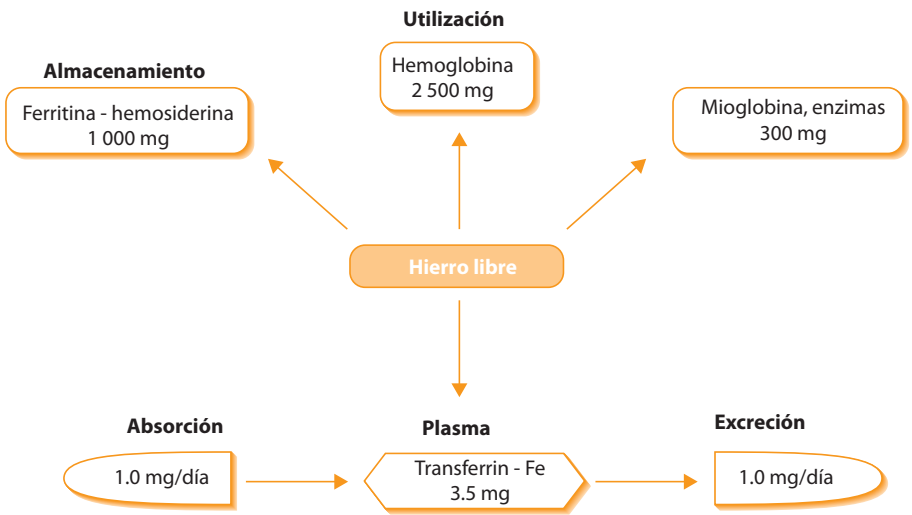


Figura 5-2. Metabolismo del hierro.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Otros indicadores que apoyan a la evaluación del hierro en el organismo, en el cuadro 5-2 se encuentran los valores de referencia de estos indicadores:

- Hierro sérico.
- TIBC (capacidad total de fijación de hierro).
- Porcentaje de saturación de hierro.
- Ferritina sérica.
- Protoporfirina eritrocitaria.

Hierro sérico

La determinación de hierro sérico puede establecerse por métodos colorimétricos o de absorción atómica. El método colorimétrico es el más utilizado y se basa en la formación de una sustancia coloreada cuando el hierro, en su forma reducida, reacciona con un derivado de la fenantroleína. El reactivo más usado es la betafenantroleína. La capacidad total de fijación del hierro en el plasma es una forma indirecta de medir la concentración de hierro fijado por la transferrina en el plasma, más la capacidad latente de fijación de hierro.

Capacidad total de fijación del hierro (CTFH)

El indicador denominado capacidad total de fijación del hierro (CTFH), o TIBC por las siglas en inglés de *total iron-binding capacity*, se encuentra en las anemias poshemorrágicas y ferropénicas, en general con cifras superiores a 400 µg/dL y en ciertos estados fisiológicos como los últimos meses del embarazo, en los tratamientos prolongados con estrógenos y de manera constante en la insuficiencia hepática (figura 5-3).

El indicador CTFH disminuye durante procesos infecciosos, en hepatopatías crónicas y en las grandes pérdidas proteicas del síndrome nefrótico.

Es un indicador de hierro que se calcula relacionando los datos obtenidos de la concentración sérica de hierro y el resultado de la medición de CTFH (TIBC), como se muestra a continuación:

$$\text{\% de saturación} = \frac{\text{Hierro sérico} \times 100}{\text{CTFH}}$$

Valores de referencia: 30-40%

Ferritina

Compuesto hidrosoluble de hierro trivalente unido a una proteína –"apo-ferritina»"–. Es la forma de depósito de hierro en el hígado, médula ósea y bazo.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 5-2. Cifras de referencia de indicadores de hierro

Medición de:	Varones	Mujeres
Hierro sérico	80 a 150 µg/dL	60 a 140 µg/dL
Ferritina sérica	13 a 150 µg/L	32-350 µg/L
Capacidad total de fijación del Fe (TIBC)	300 a 400 µg/dL	250 a 350 µg/dL
% de saturación de transferrina	30 a 40%	

La hemosiderina, otra molécula que se encuentra en la célula, también sirve de almacén de hierro.

El indicador de ferritina es de gran utilidad para valorar el hierro en el organismo. Se ha demostrado recientemente que la ferritina se encuentra en la sangre en la misma proporción que la almacenada, por lo que se utiliza como indicador de hierro.

La determinación de ferritina es se obtiene mediante radioinmunoensayo. Oscila entre 13 y 150 µg/L (o ng/mL) en la mujer, con una media de 39. En el varón oscila entre 32 y 350 µg/L, con una media de 96. Conocer su concentración es de gran utilidad para valorar las reservas de hierro del organismo y detectar su deficiencia. La concentración de ferritina decrece en la primera fase de la deficiencia de hierro; en cambio, en procesos infecciosos y neoplásicos se presentan cifras de ferritina elevada debido a un bloqueo del hierro en los depósitos. Así, una ferritina sérica < 12 ng/mL se presenta en la carencia de hierro, específicamente en la anemia ferropénica.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

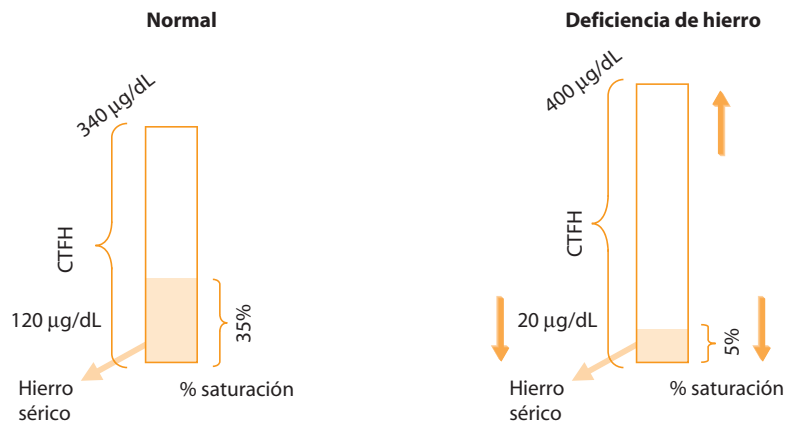


Figura 5-3. Representación de la transferrina en la capacidad de fijación del hierro.

Protoporfirina eritrocítica

La protoporfirina es un precursor del grupo hem y se utiliza como un indicador sensible de la deficiencia de hierro. Cuando el aporte de hierro a los eritroblastos es insuficiente para la síntesis de hem, la protoporfirina que no ha podido ser utilizada se acumula en los eritrocitos. El aumento de la concentración de la protoporfirina libre en los eritrocitos es un indicador de la segunda etapa de la deficiencia de hierro y se puede medir por fluorimetría. Las cifras de referencia son de 35 µg/dL. Se observan concentraciones mayores de 70 µg/dL cuando el suministro de hierro es inadecuado para la médula ósea (deficiencia de hierro) o cuando existe inflamación. También se presentan índices elevados por envenenamiento por plomo y en trastornos relacionados con el metabolismo de la protoporfirina.

Velocidad de sedimentación globular (eritrosedimentación)

El estudio de velocidad de sedimentación globular (VSG) tiene relación con el grado de actividad de enfermedades que cursan con inflamación crónica (artritis reumatoide, polimialgia reumática y tuberculosis).

Fundamento

La interacción electrostática es el mecanismo por el cual los eritrocitos se sedimentan , así como por diversas proteínas aumentadas en el plasma, como en los procesos inflamatorios agudos o los procesos degenerativos, que favorecen la sedimentación o agregabilidad de los eritrocitos (por ejemplo, Fibrinógeno y globulinas).

En presencia de albúmina, los eritrocitos aumentan su potencial zeta (intensa carga negativa a nivel de la superficie de los eritrocitos) y en cambio las globulinas y el fibrinógeno tienden a disminuirlo. En la práctica clínica se reporta aumento de la VSG cuando el volumen corpuscular medio (VCM) se encuentra muy disminuido (microcitosis), o por la baja concentración de hemoglobina (anemia).

Medición

Considerado el método de referencia, se utiliza el método de Westergren, el cual emplea sangre completa por medio de EDTA (1.5 mg/mL) como anticoagulante. La sangre se coloca en un tubo que tiene grabada una escala en milímetros desde 0 hasta 200 mm y se coloca en posición vertical durante 1 h.

Interpretación de resultados

Los valores de referencia de la VSG se expresan en mm/h y varían en cada sexo y en menor grado con la edad o el embarazo (cuadro 5-3).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 5-3. Valores de referencia de VSG

Edad	Límite
Niños de 0 a 15	15 mm/h
Varón adulto (17 a 50)	10 mm/h
Mujer adulta (17 a 50)	12 mm/h

INDICADORES DE INMUNIDAD

La cuenta absoluta de linfocitos es el indicador de inmunidad más utilizado.

Estos datos se obtienen por medio de un estudio de biometría hemática. Con el estudio de la fórmula leucocitaria se obtiene el porcentaje de leucocitos totales (T y B), que representan 30 a 40% de los leucocitos totales.

Estos datos pueden reportarse en porcentaje o en cifras absolutas. Los valores de referencia en cifras absolutas de linfocitos en adultos oscilan entre 1 500 y 4 000 µL. Los valores de linfocitos presentan cambios importantes en tratamientos de quimioterapia, con esteroides o después de una cirugía.

En la desnutrición disminuye el número de linfocitos T, probablemente debido a una disminución de la maduración de las células precursoras de los linfocitos T . Debe tomarse en cuenta que la disminución del número de linfocitos no se debe exclusivamente a factores nutricionales, pero son de gran utilidad para conocer la respuesta inmune del organismo (cuadro 5-4).

REACCIÓN DE HIPERSENSIBILIDAD CUTÁNEA RETARDADA

Otro indicador que valora la respuesta inmune, que es una prueba más específica, es la reacción de hipersensibilidad cutánea retardada. Esta reacción mide la función de los linfocitos T.

Los linfocitos T participan en la inmunidad mediada por células (o inmunidad celular); esta célula tiene memoria y especificidad y tiene una participación importante en la defensa del organismo, donde puede reconocer un antígeno específico que ha estado antes en contacto.

Cuadro 5-4. Relación de los linfocitos con el grado de desnutrición

Grado de desnutrición	Cuenta de linfocitos
Desnutrición leve	1 200 y 2 000 mL
Desnutrición moderada	800 y 1 200 mL
Desnutrición grave	< 800 mL

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Esta reacción dérmica consiste en inyectar en el antebrazo una proteína que forma parte de un microorganismo con el que el paciente ha estado en contacto con anterioridad. Un ejemplo es la proteína purificada del bacilo tuberculoso llamada tuberculina (PPD), o la proteína de la levadura de *Candida albicus,* llamada candidina, o las enzimas del *Estreptococo* (estreptodornasa/estretocinasa).

La proteína inyectada intradérmicamente es reconocida por los linfocitos T de memoria, los cuales liberan linfocinas y, como respuesta a estas sustancias, se movilizan los macrófagos y otras células fagocitarias dando lugar a una respuesta linfocitaria. Las pruebas cutáneas también son llamadas de sensibilidad retardada, ya que se presenta una reacción inflamatoria como respuesta de los linfocitos al reconocer a la proteína del microorganismo, con induración entre 24 y 48 h en el sitio de la aplicación.

Las reacciones son positivas cuando existe una induración en el sitio de la inyección de la proteína de 5 mm o más a las 24 a 72 h. Se considera anergia cuando no hay respuesta o ésta es prácticamente inexistente. Estas reacciones son importantes como medición de inmunidad celular. Asimismo, se ha observado que la desnutrición se asocia a la anergia y la renutrición ha conseguido mejorar su respuesta.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

EJERCICIO

Indicadores de hierro

1. Paciente de sexo masculino de 46 años al que se le realizaron las siguientes evaluaciones bioquímicas:

BIOMETRÍA HEMÁTICA

EXAMEN	Resultados	Valores de referencia
Leucocitos x10^3	9.3 µL	4.8 a 10.8 µL
Eritrocitos x10^6	4.0 µL	4.5 a 6.2 µL
Hemoglobina	10 g/dL	12 a 16 g/dL
Hematocrito	32%	37 a 47%
VCM	71 fL	80 a 94 fL
MCHC	33 g/dL	33 a 37 g/dL
RDW	15.5%	11.5 a 14.5%
Plaquetas x 10+3	227µL	130 a 400 µL
Linfocitos	57%	20 a 50%
Monocitos	8%	3 a 7%
Eosinófilos	2%	1 a 3%
Basófilos	0	0 a 1%
Neutrófilos en banda	2%	3 a 5%
Neutrófilos segmentados	31%	25 a 65%
Ferritina	8 ηg	12 a 140 ηg
Hierro sérico	69 µg	50 a 120 µg
CTFH	130 µg	250 a 400 µg

2. Escriba los indicadores de hierro que se realizaron al paciente:

_____

3. Escriba el indicador inmunológico (cifras absolutas)_____, así como sus cifras de referencia_____

_____

4. Calcule las cifras absolutas de los neutrófilos del paciente_____

_____

5. Calcule el porcentaje de saturación de hierro_____

6. Escriba los índices eritrocitos reportados en una biometría hemática

_____

7. Índices eritrociticos que indican que los eritrocitos son microcíticos e hipocrómicos_____

_____

_____

8. Indicador de hierro que funge como almacén _____

_____

9. Indicador de hierro que se encuentra aumentado durante una deficiencia de hierro.

_____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19ª edición. Masson. 2002. pp. 157-159, 161, 163.

Castro del Pozo: *Metabolismo del hierro normal y patológico*. 2ª edición. Masson. España. 1995. pp. 42, 43.

Chernecky, Berger: *Pruebas de laboratorio y procedimientos diagnósticos*. 2ª edición. McGraw-Hill Interamericana. 1999. pp. 366, 367, 656, 657.

González de Buitrago JM. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Madrid. Ed. McGraw-Hill Interamericana de España. 1998. pp. 450-452, 650-652.

Guyton, MD, Arthur C. Hall, Ph.D., John E: *Tratado de fisiología médica*. 10ª edición. McGraw-Hill Interamericana. 2001. pp. 471, 472, 964-966.

Hillman S. Robert (*et al*): *Manual de hematología*. México. Ed. El Manual Moderno. 1998. pp. 40, 61, 66, 68.

Mahan, L. Kathleen. Escott-Stump, Sylvia: *Nutrición y dietoterapia de Krause*. 10ª. edición. McGraw Hill. México. 2001. pp. 422-426.

R. Yturriaga, C. Diéguez: *Trastornos alimentarios*. McGraw-Hill Interamericana. 2002. p. 184.

Ruiz Argüelles GJ: *Fundamentos de hematología*. Ed. Médica Panamericana. 3ª. edición. México. 2000. pp. 75-76.

The American Dietetic Association: *Manual of Clinical Dietetics*. Fifth edition. EUA. 1996. pp. 9, 11, 13, 14.

Salas Salvadó, Jordi (*et al*): *Nutrición y dietética clínica*. Masson. España. 2000. p. 74.

Vives Joan, Luis. Aguilar, Joseph Luis: *Manual de técnicas de laboratorio en hematología*. 2ª edición. Masson. España. 2002. pp. 125, 141, 147, 185, 186, 187, 327, 330, 334.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de la pruebas de laboratorio*. 4ª edición. pp. 442, 443, 450.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 6

Proteínas

La mayoría de las proteínas plasmáticas son sintetizadas en el hígado. Otras proteínas que se encuentran en el plasma sanguíneo, de gran importancia para valorar al paciente, son las gamma globulinas (anticuerpos) y la hemoglobina; la primera se sintetiza en los linfocitos B y la última en los eritroblastos (eritrocitos jóvenes).

Las proteínas plasmáticas de los tejidos ocupan un lugar importante en el metabolismo proteico. Interaccionan con todos los tejidos o células del organismo y están muy relacionadas con el metabolismo proteico en el hígado, siendo éstos la albúmina, las globulinas y el fibrinógeno.

PROTEÍNAS PLASMÁTICAS (PT)

Se denomina proteínas totales a todas las que se encuentran en el plasma, con excepción del fibrinógeno (factor de la coagulación), ya que la medición se realiza en suero.

La medición de proteínas totales proporciona importante información acerca del estado nutricio del paciente y también como indicador de la presencia de enfermedades hepáticas orgánicas graves. Se puede calcular el total de proteínas y la albúmina mediante técnicas espectrofotométricas, en las que la cuantificación de globulinas no se realiza. Así, para obtener dicho cálculo se procede

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

de la siguiente manera: a la cantidad total de proteínas totales se le restan los resultados de albúmina:

Ejemplo:

Proteínas totales	=	7.0 g/dL
Albúmina	=	4.0 g/dL
Globulinas	=	3.0 g/dL

Otras técnicas para conocer las fracciones de las globulinas es la electroforesis de proteínas, que separa las globulinas de la albúmina, presentando a las fracciones en un patrón que es de gran especificidad para ciertas enfermedades. Las fracciones obtenidas por electroforesis y su función se describen en la figura y el cuadro 6-1.

Cifras de referencia de las fracciones de las proteínas en el adulto

Proteínas totales	6.0 a 8.0 g/dL
Albúmina	3.5 a 5.5 g/dL
Globulinas	2.0 a 3.6 g/dL

MEDICIONES DE PROTEÍNAS TOTALES EN SUERO (PT)

La determinación de proteínas siempre se realiza en suero y los métodos para determinar proteínas totales en suero son los siguientes:

- Método de Biuret.
- Determinación del índice de refracción.

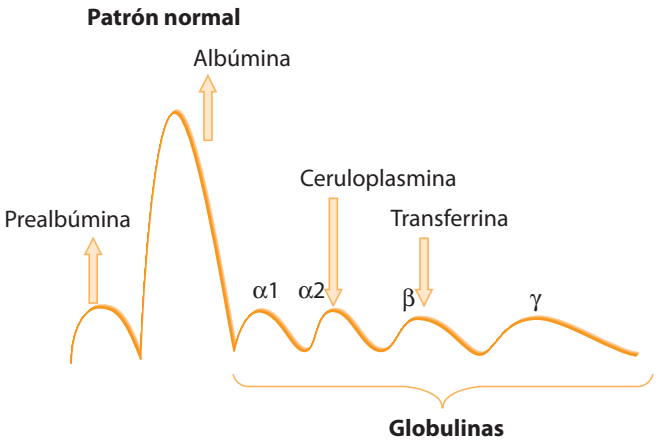


Figura 6-1. Patrones electroforéticos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

- Electroforesis.
- Inmunodifusión radial.
- Nefelometría.

Método de Biuret

Método colorimétrico que cuantifica el monto total de las proteínas que se reportan en g/dL en suero.

Fundamento. Todas las proteínas contienen enlaces peptídicos, los cuales se combinan con el ión cobre en solución alcalina fuerte dando por resultado un complejo de color azul violeta. La concentración de color es proporcional al número de enlaces peptídicos y por lo tanto de proteínas; dicha concentración se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm.

INDICADORES DE PROTEÍNA VISCERAL

La evaluación de los indicadores de proteína visceral representa un parámetro importante, ya que se utiliza para determinar la función hepática de síntesis de proteínas.

Cuadro 6-1. Fracciones obtenidas en un patrón electroforético y su función

Función		Proteína
Prealbúmina		Transporte de tiroxina, retinol
Albúmina		Mantener la presión oncótica intravascular y de transporte
Globulina α1	Antitripsina	Principal inhibidor de la proteasa de serina del plasma
	Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	Transporte inverso del colesterol
	Haptoglobulina	Fija la hemoglobina extracorpuscular
Globulina α2	Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL)	Transporte de colesterol y triglicéridos
	Ceruloplasmina	Transporte de cobre; aumenta el uso de hierro como ferroxidasa
	Eritropoyetina	Hormona eritropoyética
Globulina β	Lipoproteína de baja densidad (LDL)	Transporte de colesterol y triglicéridos
	Transferrina	Transporte de hierro
	Complemento	Lisis de membranas celulares de patógenos
Globulina γ	Globulinas de grupo sanguíneo	Anticuerpos naturales del sistema ABO
	Inmunoglobulinas	Anticuerpos sintetizados por los linfocitos B

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Una disminución en la síntesis se reflejará en la composición de la masa magra y en la producción de otras moléculas proteicas como inmunoglobulinas, enzimas y lipoproteínas. Se valora mediante la determinación en sangre de los niveles de diversas proteínas sintetizadas en el hígado, por lo que estas proteínas son también indicadores indirectos de la síntesis hepática.

En la valoración del estado nutricio es considerada como mejor indicador de proteína visceral la proteína que tenga una vida media más corta. Además deben tomarse en cuenta otros factores, tales como sus reservas en el organismo, la rapidez de su síntesis y que refleje un cambio cuando exista una restricción en la ingesta de proteína y energía. Como una sola proteína no cumple todos estos requisitos, se utilizan varias proteínas para la valoración de proteína visceral (cuadro 6-2).

Albúmina

Es la molécula más pequeña y abundante de las proteínas del plasma, que generalmente comprende 60% del contenido proteico plasmático total.

En el hígado se sintetizan casi 12 g de albúmina al día y tiene una vida media de aproximadamente 20 días.

Funciones de la albúmina

- Transporta numerosas sustancias orgánicas e inorgánicas tales como tiroxina, bilirrubina no conjugada, cortisol, estrógenos, ácidos grasos libres, lípidos, vitaminas (A, B y E), hierro, calcio y magnesio, entre otras.
- Se fija en distintas regiones de la molécula de albúmina mediante enlaces covalentes o disociables.
- Es responsable de 75 a 85% del mantenimiento de la presión oncótica intravascular.

Cuadro 6-2. Vida media de las proteínas viscerales

Proteína		Vida media	Medición por:
Albúmina sérica		14 a 21 días	Calorimétrico: Verde bromocresol
Transferrina		8 a 10 días	Inmunonefelometría
Prealbúmina	Transportadora de tiroxina Transportadora de retinol	2 días 10 a 12 h	Inmunonefelometría HPLC RIA
Fibronectina	Participa en la integridad vascular	4 a 24 h	Inmunodifusión radial

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

La albúmina se considera el recurso nutricional primario para el tejido corporal.

Es un buen indicador de largo plazo de los pacientes que reciben soporte nutricional, siempre que se utilice con otros parámetros como transferrina y prealbúmina, entre otros.

Las cifras de referencia de la albúmina son 3.5 a 5.5 g/dL. En el cuadro 6-3 se describen la concentración de albúmina en el plasma y su relación con el diagnóstico de desnutrición.

La albúmina sérica disminuye en:

- Enfermedades hepáticas crónicas, por lo que el nivel de albúmina sérica se considera como un índice fidedigno de gravedad y pronóstico en enfermedades hepáticas crónicas.
- Neuropatías o enteropatías en las que se presenta albuminuria.
- Desnutrición grave y traumatismos.
- Quemadoras extensas.
- Cirugías.
- Infecciones.

Transferrina

Globulina beta cuya función es transportar hierro en el organismo humano y que es utilizada como indicador de síntesis hepática.

Esta proteína refleja mejor los cambios agudos en la síntesis hepática y tiene una vida media de 8 a 10 días.

Sus cifras de referencia son:

Adulto: 200 a 400 mg/dL.
Recién nacido: 130 a 275 mg/dL.

En el cuadro 6-4 se describen la concentración de transferrina en el plasma y su relación con el diagnóstico de desnutrición.

Sus cifras aumentan en déficit de hierro, tratamientos de estrógenos y en el embarazo.

Sus cifras disminuyen en enfermedades hepáticas, síndrome nefrótico e infecciones.

Cuadro 6-3. Relación de la albúmina con el grado de desnutrición

Albúmina sérica	
Grado de desnutrición	**Valores de albúmina**
Desnutrición leve	2.8 a 3.5 g/dL
Desnutrición moderada	2.1 a 2.7 g/dL
Desnutrición grave	< 2.1 g/dL

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 6-4. Relación de los valores de transferrina con el grado de desnutrición

Transferrina sérica	
Grado de desnutrición	**Valores de transferrina**
Desnutrición leve	150 a 75 mg/dL
Desnutrición moderada	100 a 150 mg/dL
Desnutrición grave	< 100 mg/dL

Su determinación en suero puede realizarse de manera directa; sin embargo, no es muy usual por ser una práctica de alto costo. La medición de la capacidad total de fijación de hierro (CTFH) es la forma indirecta de medirla y la más utilizada.

Prealbúmina

Esta proteína se une a la hormona tiroxina y constituye un buen indicador del estado nutricio de pacientes que reciben nutrición parenteral. Es más sensible que la medición de albúmina y transferrina y puede reflejar la ingesta diaria de proteína más que el estado nutricional. Los niveles pueden verse afectados por trauma, infecciones, enfermedades hepáticas y renales y en diálisis y cirugías. Es altamente sensible en inflamaciones o situaciones de estrés. Esta proteína es filtrada por el glomérulo y metabolizada por el riñón. Tiene una vida media de 1 a 2 días y sus valores de referencia son 17 a 29 mg/dL. En el cuadro 6-5 se presentan los valores de prealbúmina relacionado con desnutrición.

Proteína transportadora de retinol

Esta proteína se une a una molécula de retinol y se constituye así en la proteína transportadora para esta vitamina. Es filtrada por el glomérulo y metabolizada por el riñón; sus valores se elevan en problemas renales. Tiene una vida media de 10 h, reflejando los cambios agudos de desnutrición mejor que otras proteínas viscerales. Sus valores de referencia oscilan entre 2.6 y 7.6 mg/dL y disminuye rápidamente en traumatismos, infecciones, cáncer, cirrosis hepática y enfermedades donde se presenta pérdida de proteínas por intestino o riñón.

Cuadro 6-5. Valores de prealbúmina y grado de desnutrición

Grado de desnutrición	Valores de prealbúmina transportadora de tiroxina
Desnutrición leve	10 a 15 mg/dL
Desnutrición moderada	5 a 10 mg/dL
Desnutrición grave	< 5 mg/dL

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Fibronectina

Esta proteína puede utilizarse como indicador para la detección y vigilancia del estado proteínico-energético. Es una globulina α del plasma, posee gran tamaño e interviene en la adhesión y diferenciación celular, la cicatrización de las heridas y las funciones de opsonización. La fibronectina se utiliza principalmente como indicador pronóstico y marcador de depleción hídrica.

El déficit proteínico-energético se acompaña de una disminución en los niveles de fibronectina, los cuales se normalizan con una ingesta adecuada. La fibronectina es un indicador que se ha utilizado para valorar el estado proteínico-energético en que los niveles de esta proteína aumenta en relación directa con la recuperación del paciente.

Algunos estudios muestran que la infusión de concentrados de fibronectina aumentan la tasa de supervivencia de niños con kwashiorkor.

Dos ventajas teóricas de la fibronectina son su vida media relativamente breve (4 a 24 h) y su alto peso molecular. Esta última impide la fuga masiva de la proteína desde el compartimiento del plasma que se presenta en estados de aumento en la permeabilidad capilar, como en la inflamación aguda.

La síntesis de fibronectina se realiza en las células endoteliales, los macrófagos peritoneales, los fibroblastos y en el hígado, siendo su fuente de producción más importante la extrahepática.

Es de gran importancia como indicador precoz de desnutrición proteico-calórica. Sin embargo, presenta el inconveniente de que se altera por circunstancias tan diversas como traumatismo, quemaduras, cirugía, hepatitis biliar y cirrosis.

La disminución en las concentraciones plasmáticas de albúmina y en los niveles de las otras proteínas de fase aguda negativas se debe a la regulación descendente de la expresión de genes y traducción, aumento en el catabolismo, transporte a las zonas extravasculares, así como una probable reducción en la síntesis proteica, seguida de una disminución de los aminoácidos esenciales que se obtienen mediante la alimentación.

Cuando el paciente recibe atención por procesos agudos sufre algún grado de inflamación, lo que dificulta la interpretación exacta de cualquier disminución en los niveles de albúmina, transferrina y transtirretina. Tal vez la mejor manera de eliminar esta desventaja es no utilizarlas para la valoración proteínico-energética durante las fases de altibajos de la respuesta inflamatoria.

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA POSITIVA

Ante situaciones de agresión, los hepatocitos sintetizan diferentes proteínas como respuesta a procesos inflamatorios, como son las proteínas mediadoras de la respuesta metabólica o reactante de la fase aguda (proteína C reactiva, citocinas, TNF), presentándose una disminución en la síntesis de proteínas viscerales. Así, ante la agresión es difícil atribuir a la nutrición los cambios en las concentraciones plasmáticas de las proteínas viscerales. Por lo anterior se recomienda comparar cambios en la síntesis y la vida media de las proteínas viscerales y de las proteínas reactantes de la fase aguda.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Una enfermedad infecciosa o un traumatismo agudo producen estrés inflamatorio, que a menudo se acompaña de desnutrición de proteína y energía. Además hay liberación de citosina, como interleucina-1, interleucina-6 y factor de necrosis tumoral (TNF), secretados por los monocitos y los macrófagos o fagocitos cercanos al endotelio vascular.

Las proteínas designadas como reactantes de fase aguda negativas (albúmina, transferrina, prealbúmina) disminuyen durante la reacción de fase aguda.

Otras proteínas designadas como "reactantes de fase aguda positivas" (y a menudo de manera incorrecta como proteínas de fase aguda) aumentan en grados variables. Entre éstas se encuentran la proteína C reactiva, el fibrinógeno, la haptoglobina, la glucoproteína antitripsina alfa, la ceruloplasmina y el complemento C3 y C4. El cambio en las concentraciones de estas proteínas generalmente es proporcional a la gravedad de la lesión de los tejidos que ocurre después de un traumatismo, infección u otra agresión fisiológica.

Resulta difícil determinar el momento óptimo para iniciar la intervención nutricional intensiva durante el proceso inflamatorio.

Proteína C reactiva

Un método para la estandarización del tratamiento nutricional durante la respuesta inflamatoria consiste en utilizar un indicador objetivo de la fase aguda. Un procedimiento cada vez más utilizado consiste en emplear una de las proteínas de reacción de fase aguda positiva para vigilar la progresión de las reacciones de estrés y comenzar intervenciones nutricionales más intensivas cuando este indicador muestra que la reacción inflamatoria va disminuyendo.

El indicador de fase aguda que más se utiliza es la proteína C reactiva (CRP, del ingés *C-reactive protein,*). Aunque no está del todo clara su función exacta, la proteína C reactiva aumenta en las primeras etapas del estrés agudo, por lo general en las primeras 4 a 6 h después de una intervención quirúrgica o algún traumatismo. Además, su nivel aumenta hasta 1 000 veces, según la intensidad de respuesta al estrés. La experiencia indica que cuando el nivel de proteína C reactiva comienza a disminuir, el paciente ha entrado en el periodo anabólico y es cuando la dietoterapia resultará beneficiosa.

Un indicador que refleja que el paciente empieza a sintetizar proteína en el hígado son los valores de transtirretina, que comienzan a aumentar más o menos al mismo tiempo que empieza a disminuir la proteína C reactiva y cuando se presentan los valores progresivamente mayores de transtirretina, se correlacionan bien con una mejoría en el estado proteínico-energético. El principio de la intervención nutricional puede coincidir con cambios en estas dos proteínas plasmáticas.

Factor de crecimiento 1 semejante a la insulina

Un enfoque alternativo al empleo de dos proteínas (como la CRP y la transtirretina o RBP) para vigilar los estados de inflamación y nutrición por separado sería

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

encontrar una proteína que permitiera valorar el estado proteínico-energético aun durante la respuesta de fase aguda. Tal proteína podría utilizarse tanto para la detección como para la vigilancia del estado de nutrición. Una propuesta para medir esta función es el factor de crecimiento 1 semejante a la insulina (IGF-1, o somatomedina C). Esta hormona peptídica sirve de mediadora de los efectos de la hormona de crecimiento. Tiene una vida media de casi 4 h, responde con rapidez a cambios en el estado proteínico-energético, independientes del estado inflamatorio y al parecer es muy sensible al consumo de proteína. Debe tenerse en cuenta que su concentración resulta afectada por enfermedades hepáticas, renales y algunos procesos autoinmunes.

EJERCICIO

Proteína visceral

1. Escriba el nombre de 10 proteínas del plasma.

_____

2. Escriba las fracciones de las proteínas en suero separadas por la técnica de electroforesis en acetato de celulosa.

_____

3. Refiera en qué patologías disminuye la albúmina sérica.

_____

4. Escriba el nombre de cuatro proteínas que el nutriólogo utiliza como indicadores de proteína visceral.

_____

5. Escriba los nombres de las proteínas que se comportan como reactantes de fase aguda.

_____

6. Indique cuál es la vida media de:

- Albúmina _____
- Transferrina _____
- Trasportadora de retinol _____
- Trasportadora de tiroxina _____
- Fibronectina _____
- Haptoglobina _____
- Deshidrogenasa láctica _____
- Hemoglobina _____

7. Investigue y anote los valores de referencia de las siguientes proteínas:

- Proteínas totales _____
- Albúmina _____
- Transferrina _____
- Prealbúmina _____
- Fibronectina _____
- Globulinas _____
- IgM _____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

INDICADORES DE PROTEÍNA SOMÁTICA

Balance nitrogenado

El balance de nitrógeno es la técnica bioquímica más antigua para valorar el estado proteínico. También es la única variable bioquímica que verdaderamente refleja las pozas de proteína tanto somática como visceral. El balance de nitrógeno se basa en que cerca de 16% de la masa de proteínas está constituida por nitrógeno. Esto varía de una proteína a otra, pero 16% representa una estimación promedio satisfactoria para la proteína alimentaria. Por tanto, si puede determinarse con precisión el consumo diario de proteína, la medición de la excreción de nitrógeno, junto con las correcciones por las pérdidas insensibles (por ejemplo, por descamación de la piel y gastrointestinal, pérdida de pelo y sudor), permiten establecer el balance de nitrógeno.

En los adultos sanos el balance nitrogenado es de cero. Es negativo en varias formas de desnutrición proteínico-energética en las que la pérdida de nitrógeno sobrepasa el consumo y es positivo en niños en crecimiento, mujeres embarazadas y adultos que están añadiendo masa (peso) o recuperándose de alguna lesión o enfermedades, considerando que el balance nitrogenado es alterado por enfermedades hepáticas, renales y por algunos fármacos.

Este indicador no mide reservas proteicas o valora el estado nutricional; sólo refleja el metabolismo y el ingreso dietético proteico en un plazo muy limitado.

El balance de nitrógeno puede calcularse de la siguiente manera:

$$\text{Balance de nitrógeno} = \frac{\text{Ingesta de proteína g/24 h} - (\text{N de la urea urinaria (g/24 h)} + 3 \text{ o } 4 + \text{NUN})}{0.25}$$

Cada 6.5 g de proteína contiene 1 g de N; se le añade 4 (que representa el N de otros compuestos nitrogenados), así como las pérdidas de N por vía fecal, urinaria, descamación y respiración.

En algunos laboratorios, en lugar de medir nitrógeno urinario se realiza la medición de la molécula de urea; en estos casos el factor de corrección es +4 g/24 h, en el que se consideran compuestos nitrogenados tales como ácido úrico, amoniaco, creatinina y aminoácidos, que son eliminados por la orina.

El nitrógeno urinario total puede cuantificarse mediante la técnica de Kjeldahl, la cual es laboriosa y por lo general no apropiada para fines clínicos, o mediante piroquimioluminiscencia.

Este último método puede realizarse con más facilidad y a menor costo que la determinación de Kjeldahl. La medición de nitrógeno de la urea en orina de

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

24 h para calcular el balance de nitrogenado es el más utilizado, ya que representa 90% del N excretado.

La principal dificultad respecto de las mediciones del balance de nitrógeno estriba en que existe la posibilidad de no puede estimar el consumo de proteína en sujetos que consumen una dieta oral. Sin embargo, estas mediciones son valiosas para vigilar dietas donde se conoce el contenido de N, como en la nutrición parenteral o en la alimentación con sonda enteral. El balance de nitrógeno se determinará por lo menos cada semana durante el apoyo nutricional a corto plazo.

Estas determinaciones permiten al nutriólogo evaluar no sólo si el paciente se encuentra en un adecuado balance nitrogenado, sino que además ayuda a conocer la cantidad de proteína que requiere el paciente. Por consiguiente, aun cuando el balance sea positivo, este estudio es apropiado para saber si se requiere reducir la proteína que se administra y evitar la desaminación a gran escala de aminoácidos que no pueden utilizarse en la síntesis de proteína de novo. La cantidad apropiada de proteína disminuirá el consumo de energía para la desaminación de aminoácidos y la formación de urea.

Excreción de creatinina

La creatinina excretada en orina de 24 h es de 1 a 2 g/24 h (8.8 a 17.6 mmol/24 h) en los varones y de 0.6 a 1.5 g/24 h (5.3 a 13.2 mmol/24 h) en las mujeres adultas. El dato de la excreción de creatinina es un indicador de proteína somática, ya que en personas con función renal normal puede calcularse la masa muscular mediante tablas que relacionan la concentración urinaria de creatinina excretada durante 24 h con la talla. Estos datos varían de acuerdo con el género y la edad del individuo.

Es importante tomar en cuenta que el ejercicio vigoroso y una dieta rica en carne pueden provocar un incremento significativo de la excreción de creatinina. Cuando un paciente consume una dieta restringida en carne, la magnitud de la poza de proteína somática (muscular) es directamente proporcional a la cantidad de creatinina excretada. Esto significa que los varones generalmente excretan más cantidades de creatinina que las mujeres y que los individuos con mayor desarrollo muscular excretan mayor concentración de creatinina que los menos musculosos. La excreción de creatinina no guarda relación alguna con el peso corporal total, pero sí con la masa muscular.

Índice creatinina /altura

Un enfoque utilizado para valorar el estado de proteína somática es el uso del índice creatinina-talla:

$$\text{Creatinina/talla (mg/dL)} = \frac{\text{Volumen urinario de 24 h (dl) x concentración de creatinina urinaria}}{\text{Excreción de creatinina urinaria esperada en 24 h (mg)}}$$

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

La excreción de creatinina esperada en 24 h se relaciona con la estatura del paciente y se han elaborado tablas que contienen los valores esperados.

Los valores del índice creatinina/talla que se obtienen en las tablas (Viteri) establecidas son próximos a la unidad y aquellos que se sitúan por debajo de la unidad son indicadores del catabolismo muscular.

Desde luego, la masa muscular no depende exclusivamente de la estatura, de manera que el índice de creatinina-talla debe utilizarse con cautela en individuos altos, delgados o musculosos. En la excreción de creatinina y el índice de creatinina/talla para valorar el estado de proteína somática es importante considerar el tipo de dieta del paciente, ya que la ingesta de carne eleva las cifras de excreción urinaria debido a que ésta contiene creatina y la creatinina obtenida de los alimentos no puede distinguirse de la creatinina producida por el organismo.

Las mediciones de creatinina urinaria e índice creatinina/talla no debe utilizarse en pacientes con insuficiencia renal porque éstos no la eliminan en forma constante y adecuada.

Excreción de 3-metil histidina

La masa muscular también se relaciona con la excreción del aminoácido 3-metil histidina. Éste se encuentra sólo en la actina y la miosina del tejido muscular y es producido por la modificación de los residuos de histidina de estas proteínas después de su síntesis.

Durante el recambio normal de las proteínas musculares se libera 3-metil histidina y no se puede reciclar. En consecuencia, su nivel en la orina excretada en 24 h está relacionado con la masa de proteína somática.

El inconveniente de esta medición es la dificultad para realizarla y además se requiere conocer el tipo de dieta del paciente, ya que, al igual que la creatinina, aumentaría su excreción si ingiere carne.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

EJERCICIO

Proteína somática

1. Describa de dónde proviene la molécula de urea y sus rangos de referencia en sangre y orina.

2. Investigue las utilidades en el tejido muscular de la molécula de creatina fosfato y cite la reacción donde actúa como sustrato.

3. ¿En qué pacientes se practica el estudio de balance nitrogenado?

4. Señale la utilidad de la prueba de creatinina/altura y qué datos se requieren.

5. Refiera los estudios que se realizan al paciente para evaluar proteína somática y cuál es su utilidad.

REFERENCIAS

Bernard Henry, John: *El laboratorio en el diagnóstico clínico.* 20a. edición. Editorial Marbán. España. 2007.

Casanueva, Esther: *Nutriología médica*. 2ª edición. Ed. Panamericana. México. 2001. pp. 223, 616-618.

Chernecky, Berger: *Pruebas de laboratorio y procedimientos diagnósticos*. 2a. edición. McGraw-Hill Interamericana. España. 1999. pp.925, 929, 935.

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19ª edición. Masson. 2002. pp. 62-64, 72, 73, 78, 315, 505, 506.

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Madrid. McGraw-Hill Interamericana de España. 1998. pp. 191-198, 494, 495.

Harrison: *Principios de medicina interna*. 14ª edición. McGraw-Hill Interamericana. 1998. pp. 512, 513.

Mahan, L. Kathleen. Escott-Stump, Sylvia: *Nutrición y dietoterapia de Krause.* Editorial Masson. España. 2000. pp. 74, 418-420.

Mataix Verdú, José: *Nutrición y alimentación humana*. Tomo 2. Ed. Océano/Ergan. España. 2005. p. 86.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Mongomery Rex. (*et al*): *Bioquímica. Casos y textos.* Ed. Harcourt Brace. España. pp. 46, 47.

Morrison Treseler Kathleen: *Laboratorio clínico Y pruebas de diagnóstico*. México. Ed. Manual Moderno. 1998. pp. 31, 32, 34-35

Murray, Robert K. (*et al*): *Bioquímica de Harper*. El Manual Moderno. 17ª edición. México. 2007. pp. 264, 265, 287, 304, 613.

R. Yturriaga, C. Diéguez: *Trastornos alimentarios*. McGraw-Hill Interamericana. 2002. pp. 172-175, 184.

Salas Salvadó, Jordi. (*et al*): *Nutrición y dietética clínica.* Masson. España. 2002 .p. 73.

The American Dietetic Association: *Manual of Clinical Dietetics, Nutrition Assessment of adults*. Fifth edition, EUA. 1996. pp. 9, 11, 14.

Torres, Rocío Elena: *Nutrición clínica. El balance nitrogenado y su importancia clínica*. Volumen I. Enero-febrero, 1998. pp. 23-27.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. 4ª edición. Ed. Masson. España. 2002. pp. 19, 36, 64, 591.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 7

Evaluación de la función renal

UREA

La urea es el principal compuesto nitrogenado no proteico del plasma y representa aproximadamente 45% del total de estos productos (PNNP).

Otros constituyentes en orden decreciente de contribución de nitrógeno son los aminoácidos, el ácido úrico, la creatina, la creatinina y el amoniaco.

La urea es el principal producto final del catabolismo de las proteínas y aminoácidos y se genera en el hígado mediante el ciclo de la urea.

Una vez sintetizada en el hígado, la urea penetra en la sangre, donde se distribuye a todos los líquidos intra y extracelulares, puesto que esta sustancia puede difundirse libremente a través de la mayoría de las membranas celulares. La mayor parte de la urea acaba siendo secretada por los riñones, aunque también se elimina en cantidades mínimas por la sudoración.

Los glomérulos filtran libremente la urea según el estado de hidratación, lo que determina la cantidad de orina. Entre 40 y 50% de la urea filtrada es reabsorbida de manera pasiva con el agua, sobre todo en los túbulos proximales.

La urea suele constituir la mitad (25 g) del total de sólidos en la orina y entre 80 y 90% del total del nitrógeno urinario.

La concentración de urea en la sangre es determinada la forma de nitrógeno de la urea por el laboratorio clínico, donde se reporta como N de la urea, o BUN por sus siglas en inglés.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

La producción de urea aumenta en los siguientes trastornos:

a) Causas prerrenales. Cuando existe mayor cantidad de aminoácidos metabolizados en el hígado, degradación tisular o disminución de la síntesis proteica (por ejemplo, fiebre, cirugías mayores, coma diabético, descompensación cardiaca, entre otros).
b) Causas renales. glomerulonefritis aguda, nefritis crónica, riñón poliquístico, necrosis tubular, entre otros.
c) Causas posrenales. Cualquier obstrucción de las vías urinarias, ya sea por cálculos o tumores; aumenta la reabsorción tubular de urea, disminuye la filtración y provoca concentraciones altas de urea sanguínea.

La producción de urea se encuentra disminuida en los casos de una dieta pobre en proteínas, en el embarazo o en la enfermedad hepática severa, en los que el hígado es incapaz de sintetizar urea a partir de amoniaco (NH_4), lo que provoca acumulación de amonio en sangre, que a su vez desencadena encefalopatía hepática.

Azoemia es una designación bioquímica que se refiere a cualquier aumento significativo de la concentración plasmática de compuestos nitrogenados no proteicos, principalmente urea y creatinina; la azoemia se clasifica como prerrenal y posrenal.

Cifras de referencia

Nitrógeno de la urea en sangre (BUN)

Adulto	5 a 20 mg/dL (1.8 a 6.5 mmol/L).
Adulto mayor	8 a 21 mg/dL (2.9 a 7.5 mmol/L).
Valores de alarma	100 mg/dL (> 35 mmol/L).

Los valores de referencia para urea en plasma son de 20 a 40 mg/dL.

Nitrógeno de la urea en orina de 24 h

La excreción de nitrógeno en individuos normales representa 90% del nitrógeno total eliminado por orina, por lo que constituye un indicador de gran utilidad para conocer el recambio total de proteínas en el organismo (cuadro 7-1).

Esta medición depende de la ingesta de proteínas y de la función renal y su determinación establece el grado de catabolismo proteico de acuerdo con la gravedad del estrés metabólico nutricional.

La medición de la urea ha sido tradicionalmente cuantificada por análisis químico directo o de manera indirecta por conversión previa a amoniaco, cuya medición es realizada por medio de un espectrofotómetro.

La mayoría de los métodos implica la medición del nitrógeno de amonio (NH_3) luego de someter las muestras a temperaturas elevadas (autoclave a 125 °C) o por acción de la enzima ureasa.

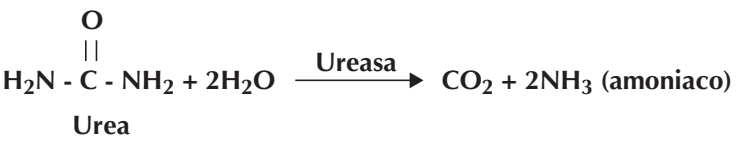
© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 7-1. Catabolismo proteico y nitrógeno de la urea en orina de 24 h

Catabolismo proteico	Nitrógeno de la urea en orina de 24 h
Normal	5 g/día
Leve	5 a 10 g/día
Moderado	11 a 15 g/día
Grave	> 15 g/día

El método enzimático es el más utilizado, tiene una elevada especificidad por la molécula de la urea, utiliza como reactivo la enzima ureasa y se realiza en suero, plasma u orina de 24 h.

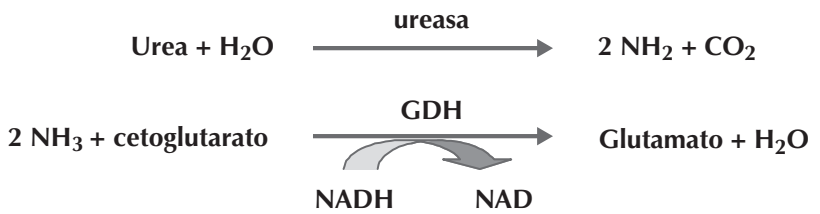
La enzima ureasa convierte la urea por hidrólisis en ácido carbónico y NH_3, como se muestra a continuación:



Para medir el amoniaco liberado se añade fenolhipoclorito:

El amoniaco liberado se mide por espectrofotometría tras reacciones con fenol en presencia de hipoclorito (reacción de Berthelot), cuya reacción muestra un color azul estable; debe prestarse atención al pH, tiempo, temperatura y contaminantes.

Después de la hidrólisis, el amonio liberado de la urea con el reactivo ureasa se combina con ácido cetoglutárico en presencia de $NADH^+$ y la enzima deshidrogenasa del ácido glutámico.



© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Los productos de esta reacción son glutamato, agua y NAD^+. La cantidad de $NADH^+$ convertida en NAD^+ (leída en un espectrofotómetro a 340 nm) es proporcional a la concentración de urea.

Dado que el análisis de urea sanguínea fue originalmente medido en términos de miligramos de nitrógeno, la concentración es expresada en términos de miligramos de nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) por volumen (como decilitros).

La conversión de valores de BUN a concentración de urea es la siguiente:

1. Peso atómico del nitrógeno = 14 g/mol; peso molecular de la urea = 60.06 g/mol.
2. La urea contiene dos átomos de nitrógeno por molécula.
3. En consecuencia, si se divide el peso molecular de la urea (60.06 g/mol) entre el peso atómico de los dos nitrógenos (28 g/mol), resultará un factor de 2.14.

Por lo tanto, un valor de BUN de 20 mg/dL equivale a un volumen de urea de $20 \times 2.14 = 42.8$ mg/dL.

CREATININA

La creatinina se forma a partir de la creatina, compuesto que se encuentra casi exclusivamente en el tejido muscular. La creatina es sintetizada a partir de los aminoácidos glicina y arginina, con la adición de un grupo metilo del ciclo de la metionina-*S*-adenosilmetionina-homocisteína, dependiente de folato y cobalamina.

La creatina es importante para el metabolismo muscular debido a que proporciona un mecanismo de almacenamiento de fosfato de alta energía mediante la síntesis de la fosfocreatina.

La creatina experimenta desfosforilación, proceso en el que una parte es convertida espontáneamente en creatinina mediante una reacción no enzimática que es irreversible.

La creatinina no tiene función biológica específica y es liberada de forma continua por las células musculares y eliminadas en su totalidad por el riñón. La creatinina libre no se reutiliza en el metabolismo del cuerpo y por tanto funciona únicamente como producto de excreción de la creatina. La formación de creatinina es constante y de esta manera se transforma cada 24 h una cantidad aproximada de 2% de la creatina. La formación de creatinina también tiene relación directa con la masa muscular. La creatinina es filtrada libremente por los glomérulos en su totalidad, cuando la función renal es normal.

La concentración sérica de la creatinina es relativamente constante, aceptando como valores de referencia de 0.6 a 1.2 mg/dL (53 a 106 m/mol) en varones y de 0.5 a 1.0 mg/dL (44 a 88 mmol) en mujeres.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

MÉTODOS DE LABORATORIO

Método Jaffé

La mayoría de los métodos para la determinación de la creatinina se basan en la reacción de Jaffé, en la que la creatinina es tratada con una solución alcalina de picrato para producir un complejo de color naranja rojizo brillante que se mide en el espectrofotómetro a una longitud de onda 520 nm. Esta reacción puede realizarse en suero o plasma y dado que los grupos α-cetometilo o α-cetometileno de las proteínas reaccionan con el picrato alcalino, interfiriendo y dando niveles altos de creatinina, se utiliza un filtrado libre de proteínas.

A fin de incrementar la especificidad del método de Jaffé se utiliza el reactivo de Lloyd, que es un silicato de aluminio que forma suspensiones coloidales con un elevado poder de absorción natural y que se basa en la absorción de la creatinina presente en el filtrado libre de proteínas, con lo que se evita la interferencia de cromógenos no relacionados con la creatinina y se lee en el espectrofotómetro a 234 nm. Este es considerado como el método de referencia.

Se han utilizado otras técnicas para separar y cuantificar la creatinina. La separación se realiza por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y la cuantificación se lleva a cabo por la reacción de Jaffé.

Relación BUN/creatinina

La interpretación clínica de la concentración sérica de urea y creatinina es importante para valorar la función renal. La creatinina resulta muy poco afectada por la dieta y por el estado de hidratación; además, la reabsorción tubular es mínima o nula en circunstancias normales. Se puede utilizar la relación BUN/creatinina en sangre para conocer si el aumento del BUN es debido a causas prerrenales o posrenales.

La utilidad de la medición de creatinina en plasma constituye una prueba o índice selectivo de función renal. En insuficiencia renal crónica el valor sérico de creatinina es > 3.0 mg/dL y el nitrógeno de la urea está por encima de sus valores de referencia.

DEPURACIÓN DE CREATININA

La función glomerular es determinada en forma más exacta mediante la prueba de depuración de creatinina, llamada también aclaramiento de creatinina. Este estudio es realizado en los individuos que presentan cifras superiores al rango normal de creatinina sanguínea.

La depuración de creatinina es una prueba funcional renal basada en el índice de excreción renal de la creatinina, producida por el metabolismo de las células musculares; es relativamente constante y directamente proporcional a la superficie corporal.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

La creatinina es filtrada libremente a nivel glomerular y no es reabsorbida por los túbulos.

Procedimiento

Se requiere una muestra de orina de 24 h y una de sangre y a ambas se les calcula el nivel de creatinina mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Depuración de creatinina} = \frac{\text{Creatinina en orina (mg/L)} \times \text{vol (mL)} \times \text{min}}{\text{creatinina plasmática (mg/L)}} = \text{mL/min}$$

Las cifras normales para la depuración de creatinina para una área de superficie corporal de 1.73 m^2 es de 90 a 120 mL/min en adultos (1.5-1.9 mL/s).

EJERCICIO

Función renal

1. Investigue las pruebas de laboratorio clínico que evalúan la función glomerular.

2. Investigue los indicadores bioquímicos para función renal y cómo se interpretan.

3. Describa qué mide la relación BUN/creatinina en sangre.

4. Describa en qué consiste y qué mide la prueba de aclaramiento de la creatinina o depuración de creatinina.

5. Medición que se utiliza como indicador de masa muscular.

REFERENCIAS

Murray, Robert K. (*et al*): *Bioquímica de Harper*. México. El Manual Moderno. 17ª edición. México. 2007. pp. 264, 265, 287, 304, 613.

Bernard Henry: *El Laboratorio en el diagnóstico clínico.* 20a. edición. Vol. 1. España. Editorial Marbán. 2007. p. 165.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 8

Lípidos

Los lípidos plasmáticos son sustancias orgánicas insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos. Los principales lípidos del plasma humano son colesterol, los triglicéridos, los fosfolípidos y los ácidos grasos no esterificados. Los lípidos son transportados en el plasma en forma de lipoproteínas, que son complejos macromoleculares compuestos de un núcleo hidrofóbico, un fosfolípido hidrofílico y una proteína de superficie.

COLESTEROL

El colesterol es un alcohol esteroideo insaturado que constituye un importante componente estructural de las membranas de las células y un precursor en la biosíntesis de los ácidos biliares y las hormonas esteroideas. Dos tercios del colesterol plasmático están esterificados y el tercio restante está libre.

TRIGLICÉRIDOS (TRIACILGLICEROL)

Los triglicéridos (ésteres del glicerol con una estructura de tres ácidos grasos distintos) constituyen alrededor de 95% del tejido adiposo y representan la principal forma de almacenamiento en el ser humano. Los triglicéridos son transportados en el plasma fundamentalmente en forma de quilomicrones y VLDL.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

FOSFOLÍPIDOS

Los fosfolípidos son ésteres del glicerol más dos grupos acil y ácido fosfatídico. Los principales fosfolípidos plasmáticos son la esfingomielina, la lecitina y las cefalinas.

ÁCIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS

Estos ácidos son muy importantes como fuente de energía. Cuantitativamente representan una fracción muy pequeña del total de los lípidos plasmáticos. Los ácidos grasos son transportados inmediatamente después de ser consumidos mediante el sistema porta, junto con la albúmina.

Digestión, absorción y transporte

La mayor parte de la digestión de la grasa proveniente de los alimentos tiene lugar en el intestino mediante la acción de las enzimas intestinales y pancreáticas (lipasas) y de los ácidos biliares. Las sales biliares emulsionan los triglicéridos de la dieta en pequeñas partículas cuyo diámetro es de aproximadamente una micra. El proceso de emulsión da origen a partículas que pueden ser rápidamente modificadas por las enzimas digestivas.

En el lumen intestinal, la acción de la lipasa pancreática sobre los triglicéridos ingeridos da por resultado una mezcla compleja de triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos y ácidos grasos libres.

La enzima colesterol-esterasa actúa sobre los ésteres de colesterol hidrolizándolos a colesterol libre y ácidos grasos libres. En la fase de absorción, las micelas se desintegran al contacto con el ribete en cepillo de las microvellosidades de la membrana de las células mucosas, permitiendo la incorporación diferencial de los diversos componentes micelares. Después de que los monoglicéridos y los ácidos grasos ingresan al retículo endoplasmático, los monoglicéridos y ácidos grasos son reesterificados a triglicéridos por difusión. En la fase de transporte, las lipoproteínas son el vehículo extraintestinal de los lípidos.

Lipoproteínas plasmáticas

Con base en el tamaño de las partículas, su composición química, características fisicoquímicas y de flotación y su movilidad electroforética, se distinguen cuatro clases principales de lipoproteínas.

Quilomicrones

Los quilomicrones son lipoproteínas sintetizadas en el intestino, muy ricas en triglicéridos de origen exógeno (dieta) y pobres en colesterol libre y fosfolípidos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Contienen 2% de proteína y 98% de lípidos, por lo que son de muy baja densidad, tendiendo incluso a flotar sin centrifugación. Su diámetro es desde 90 a 1 000 nm.

El elevado contenido de quilomicrones en el plasma le da a éste un aspecto turbio o "quiloso", por lo que se requiere un ayuno de 12 a 14 h para realizar el perfil de lípidos. Su parte proteica consiste de las apoproteínas ApoB-48, ApoA, ApoC y ApoE.

La enzima lipoproteína-lipasa (LPL) liberada en el endotelio de los vasos sanguíneos hidroliza los triglicéridos de los quilomicrones, transformándolos en partículas más pequeñas llamadas quilomicrones, remanentes que son reconocidos y capturados por el hígado.

Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)

Las partículas de VLDL son más pequeñas que los quilomicrones, miden de 30 a 90 nm y contienen triglicéridos de origen endógeno (principalmente hepático) en una proporción de 60% del total. El colesterol y los fosfolípidos son constituyentes menores y la cantidad excesiva de VLDL da lugar a un plasma turbio, que el laboratorio reporta como suero liposo o quiloso.

Las lipoproteínas VLDL tienen 11% de proteína, principalmente de Apo B-100, Apo CI, Apo CII y Apo E. La enzima lipoproteína-lipasa (LPL) que se encuentra en el endotelio de los vasos sanguíneos interacciona con las VLDL, hidrolizando los triglicéridos que emigran a los tejidos extrahepáticos; las partículas residuales más pequeñas se denominan lipoproteínas de densidad intermedia (IDL).

Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Las partículas LDL son producto de la degradación de las VLDL, luego de ser hidrolizadas por la enzima liproproteín-lipasa.

Las LDL constituyen alrededor de 50% del total de las lipoproteínas del plasma humano y su tamaño es de 20 a 25 nm. Las LDL son el principal vehículo del colesterol; su proporción es de 48% en estado esterificado y tiene 21% de proteína. En su mayor parte contiene Apo-B100.

Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Estos complejos son más pequeños y miden aproximadamente 10 nm de diámetro; éstos se dividen en dos subgrupos: HDL-2 y HDL-3. En la electroforesis estas fracciones migran con las globulinas α y son sintetizadas en hígado e intestino en forma de semidiscos llamados HDL inmadura.

Las partículas de HDL contienen aproximadamente 50% de proteína en forma de Apo-A, ApoC y Apo-E, 30% de colesterol esterificado y 43% de fosfolípidos. Su formación proviene del hígado y el intestino delgado.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

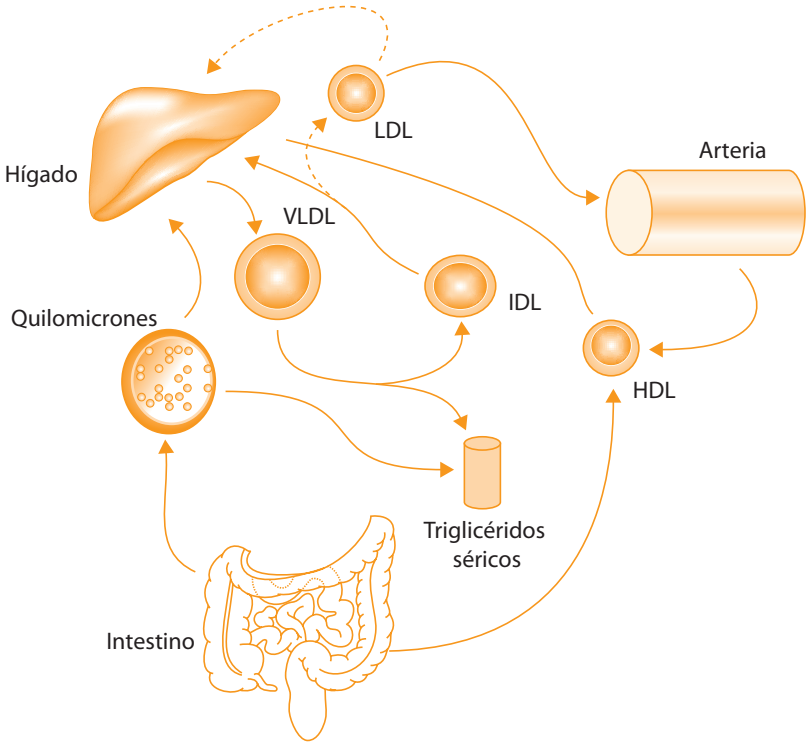


Figura 8-1. Transporte de los lípidos.

Las HDL se forman por interacción de los lípidos y las proteínas que se liberan durante la degradación de las lipoproteínas ricas en triglicéridos. Permanecen en el plasma de 3 a 5 días. En la figura 8-1 se representan la interacción de las diferentes lipoproteínas

Apoproteínas (apolipoproteínas)

La función proteica de las lipoproteínas se compone de varias proteínas específicas, denominadas apolipoproteínas. Las apolipoproteínas proporcionan hidrosolubilidad a la molécula de las lipoproteínas y además le confieren sus características físicas y químicas, tales como hidratación y estado de carga.

Entre otras funciones, desempeñan un importante papel en el transporte de los lípidos, activan e inhiben las enzimas implicadas en el metabolismo de los lípidos y actúan como cofactores.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Enzimas que actúan sobre las lipoproteínas

Con respecto al transporte de lípidos en las hiperlipidemias, existen tres enzimas de importancia decisiva:

- Lipoproteína-lipasa (LPL).
- Lipasa hepática de triglicéridos (LHTG).
- Lecitina-colesterol-aciltrasferasa (LCAT).

La (LPL) es una enzima funcional del plasma que se sintetiza en la musculatura cardiaca y esquelética, glándulas mamarias lactantes y tejido adiposo. Se transfiere a la superficie del endotelio de los capilares, donde hidroliza a los triglicéridos de los quilomicrones y de las VLDL en ácidos grasos y glicerol. Para la activación de la enzima LPL son esenciales los fosfolípidos y la apo-CII, que actúan como cofactores.

La lipasa hepática de los triglicéridos (LHTG) es secretada por los hepatocitos; participa en la conversión de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en IDL y LDL y también actúa hidrolizando los triglicéridos de los quilomicrones intactos en forma limitada.

La lecitín-colesterol-aciltranferasa (LCAT se encuentra en el plasma humano y se sintetiza en el hígado. Su función es catalizar la esterificación del colesterol que se localiza en las HDL, promoviendo la transferencia de ácidos grasos desde la lecitina al colesterol produciendo lisolecitina y colesterol esterificado, para lo que requiere Apo A-I como cofactor.

Lípidos, lipoproteínas y enfermedades

El gran interés en la medición de lípidos en el plasma reside en la asociación entre lípidos, lipoproteínas y enfermedad cardiovascular y ateroesclerosis. Las hiperlipidemas son condiciones en que los lípidos en sangre se encuentran anormalmente elevados, considerando como lípidos de interés clínico el colesterol y los triglicéridos.

Cifras séricas de colesterol

La concentración de colesterol está influida por factores genéticos y ambientales descritos en el cuadro 8-1.

Los factores nutricionales tienen importantes efectos sobre el metabolismo de los lípidos en el humano y probablemente predispone en la patogénesis de la hiperlipidemia, tan frecuentemente observada entre la población occidental.

Cifras séricas de triglicéridos

El colesterol de la dieta en sujetos sanos eleva los niveles de colesterol de las LDL y está en relación con la cantidad y la calidad de grasa de la dieta (saturada o

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

poliinsaturada). La grasa saturada eleva el colesterol de la LDL y el plasmático y la grasa poliinsaturada lo disminuye.

El consumo de un exceso de calorías a partir de cualquier fuente alimenticia y el aumento de peso pueden provocar hipertrigliceridemia por el incremento de las VLDL. El consumo excesivo de alcohol eleva los triglicéridos plasmáticos.

Los términos más usuales para describir el aumento de colesterol o triglicéridos son hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia. Cuando se eleva la concentración de lípidos en sangre es necesario el aumento de las apoproteínas específicas, necesarias para su transporte; es decir, existe hiperlipoproteinemia. Ésta suele ser consecuencia de un aumento en la síntesis, disminución en el catabolismo de las lipoproteínas, o una combinación de ambos procesos.

Lipemia es el nombre con que se designa el aspecto lechoso del suero, que se observa cuando se acumulan partículas ricas en triglicéridos en la circulación.

En patologías como la obesidad se encuentran:

- Disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL).
- Aumento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL).
- Aumento de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).
- Aumento de la relación colesterol LDL/ HDL.
- Disminución de la actividad de la enzima lipoproteína-lipasa (LPL).

Medición de lípidos en el laboratorio

En la rutina clínica sólo se determinan colesterol y triglicéridos; los fosfolípidos sólo tienen interés científico.

Cuadro 8-1. Factores de riesgo cardiovascular

Factores que pueden modificarse	Factores no modificables
• Tabaquismo	• Genética
• Hipertensión arterial	• Edad
• LDL-C superior a 130 mg/dL	• Sexo masculino
• Obesidad	• Posmenopausia
• HDL-C menor a 40 mg/dL	• Diabetes mellitus
• Sedentarismo	• Historia de enfermedad coronaria
• Alcoholismo	
• Resistencia a la insulina	
• Aumento de fibrinógeno	
• Aumento de homocisteína	

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Método enzimático para la medición de colesterol total

El colesterol total se determina en plasma o suero mediante una serie de reacciones en que la esterasa de colesterol hidroliza los ésteres de colesterol en colesterol libre y ácidos grasos.

1) Ester de colesterol $\xrightarrow{\text{colesterol-esterasa}}$ colesterol + ácidos grasos

2) Colesterol + O_2 $\xrightarrow{\text{colesterol-oxidasa}}$ colesterol- 4 en - 3 ona + H_2O_2

Este compuesto coloreado se lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm. Los valores de referencia son de 150 a 200 mg/dL (3.9 a 6.0 mmol/L).

Triglicéridos

Hoy en día se usan exclusivamente métodos enzimáticos para su detección. Son específicos, rápidos y se realizan en plasma o suero.

Fundamento

Los triglicéridos de las diferentes lipoproteínas (quilomicrones, VLDL) se hidrolizan en forma de enzimas (lipasa o esterasa), resultando glicerol + ácidos grasos. El glicerol se determina por medio del sistema NAD-$NADH_2$ con formación de una reacción de color (Formaz), que se lee espectrofotométricamente a una longitud de onda de 560 nm.

Para llevar a cabo este estudio se recomienda un ayuno de 12 a 14 h. Los valores de referencia son de 12 a 140 mg/dL (0.12 a 1.9 mmol/L).

Determinación de lipoproteínas

Entre los métodos que se utilizan para la separación de lipoproteínas pueden citarse:

- Ultracentrifugación.
- Electroforesis.
- Cromatografía.
- Precipitación en polianión.
- Procedimientos inmunoquímicos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Método de ultracentrifugación

Se basa en que las lipoproteínas tienen diferente densidad debido a su contenido de lípidos. A través de la ultracentrifugación las lipoproteínas plasmáticas pueden ser separadas entre si y darían las siguientes fracciones:

- Quilomicrones.
- Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL).
- Lipoproteína de densidad intermedia (IDL).
- Lipoproteína de baja densidad (LDL).
- Lipoproteína de alta densidad (HDL).

Método de electroforesis

Se considera el método de elección para fines clínicos, en combinación con la determinación de colesterol y triglicéridos. Permite clasificar el tipo de hiperlipidemia para determinar en forma más precisa la hipolipidemia y la dislipidemia. Los estabilizadores más utilizados son los de papel o agar-gel.

De acuerdo con su movilidad, las lipoproteínas separadas por electroforesis han sido denominadas de la siguiente manera:

- Quilomicrones no emigran durante la electroforesis.
- Las HDL emigran en las globulinas α_1.
- Las LDL emigran en las globulinas β.
- Las VLDL emigran en las globulinas α_2 o pre-β.

Apolipoproteínas

En la actualidad hay mayor interés por medir las apolipoproteínas por su importancia en el metabolismo lipoproteico, su relación con anomalías de las apolipoproteínas y problemas clínicamente identificables. Las mediciones más frecuentes son las de las Apo-A y Apo-B, que aportan información para identificar pacientes con mayor riesgo de cardiopatía coronaria.

La mayoría de los métodos de cuantificación se basan en la identificación inmunológica de las apolipoproteínas.Las técnicas de que se dispone para medir las apoproteínas son:

- Radio inmunoensayo (RIA).
- Inmunodifusión radial (RID).
- Inmunoensayo de enzima ligada a fluorescencia (Elisa).

ÁCIDOS GRASOS LIBRES (AGL)

También llamados no esterificados, se presentan en un rango de 10 a 20 mg/dL, equivalentes a 300 a 500 µEq/L y a 0.09 a 0.6 mmol/L. Proceden de los triglicéridos por lipólisis del tejido graso y en unión con la albúmina constituyen una

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 8-2. Clasificación del ATP III para lípidos

Lipoproteínas	mg/dL	Clasificación
LDL-colesterol	< 100	Óptimo
	100 a 129	Cerca de lo óptimo
	130 a 159	Limítrofe
	160 a 189	Alto
	> 190	Muy alto
HDL-colesterol	< 40	Bajo
	> 60	Alto
Colesterol total	< 200	Normal
	200 a 239	Límite alto
	> 249	Alto
Triglicéridos	< 150	Normal
	150 a 199	Límite alto
	200 a 499	Alto
	> 500	Muy alto

de las formas de transporte de los ácidos grasos del plasma. Su destino es la β oxidación o la resíntesis de triacilglicéridos. Una elevación crónica de los AGL puede contribuir a la aparición de hiperlipidemia. En el cuadro 8-3 se encuentran los valores de referencia de los índices aterogénicos y la interpretación de un perfil de lípidos

Cuadro 8-3. Pronóstico según colesterol-HDL

Índices aterogénicos	
Cociente	colesterol-LDL, normalmente un máximo de 3.55 colesterol-HDL en el varón y 3.22 en la mujer
Cociente	colesterol total, valor normal = 4.5 colesterol-HDL
Cifras superiores, riesgo cardiovascular	
Apoproteína A	(contenida en las HDL; su determinación es correlativa al colesterol-HDL), normalmente = 2.25 ± 0.40 g/L
Apoproteína B	(contenida en las LDL, con correlación significativa en el colesterol-LDL) = 0.90 ± 0.25 g/L (Turpin)
Lp (a)	Es un factor independiente de riesgo para la estenosis coronaria; niveles medios en el grupo de control = 19.4 mg/dL. Contiene una apoproteína especial. –Apo (a)– de gran tamaño molecular

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Los aumentos de los AGL ocurren en el ayuno y se incrementan notablemente si se acompaña de ejercicio; dichos aumentos también ocurren en la obesidad, la diabetes con deficiencia de insulina, el hipertiroidismo, las cirrosis hepáticas y ciertas hiperlipidemias.

PERFIL DE LÍPIDOS

El cuadro 8-2 muestra los valores de la clasificación del *Adult Treatment Panel III* (ATP III) para lípidos.

EJERCICIO

De lípidos

1. Cite los métodos de referencia para la determinación de lipoproteínas.

2. En el estudio de electroforesis, ¿cómo se comporta la lipoproteína (a)?

3. Describa las técnicas para medir quilomicrones y VLDL en el laboratorio clínico.

4. ¿Cuál es la función de la enzima lipoproteína-lipasa (LPL)?

5. Refiera las alteraciones bioquímicas que aparecen en la hipercolesterolemia familiar.

6. ¿Cuál es la función de la enzima lecitina colesterol acil transferasa (LCAT)?

7. ¿Cuál es la función de la lipasa hepática?

PERFIL DE LÍPIDOS

Examen	Resultado	Normal
Asp. del suero	turbio	
Lípidos totales	1 200	400 a 1 000 mg%
Colesterol	241	130 a 200 mg%
Triglicéridos	588	70 a 170 mg%
Fosfolípidos	371	250 a 350 mg%
HDL-colesterol	32	30 a 85 mg%
LDL-colesterol	180	72 a 150 mg%
Apoproteína "A"	136	115 a 206 mg%
Apoproteína "B"	65	60 a 150 mg%

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

8. Calcule los índices aterogénicos del cuadro anterior e indique el grado de riesgo aterogénico.

_____

9. Investigue los criterios tomados por la OMS en relación con la concentración de lípidos para el diagnóstico de síndrome metabólico.

_____

10. Indique cómo afectan los siguientes factores a la concentración de LDL:
    - Edad _____
    - Género _____
    - Tabaquismo_____
    - Alimentación _____
    - Peso _____
    - Anticonceptivos _____
    - Tiroxina _____
    - Alcohol _____
11. Describa las funciones de las Apo-A, Apo B-48, Apo B-100 y Apo CI.

_____

12. Describa por qué la hiperhomocisteína es un factor de riesgo coronario.

_____

13. Describa por qué la proteína "C" reactiva aumenta en pacientes con infarto de miocardio.

_____

14. Refiera los cambios en los resultados de un perfil de lípidos si el paciente no tiene el ayuno adecuado.

_____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19a edición. Masson. 2002. pp. 90, 91.

Bernard Henry, John: *El laboratorio en el diagnostico clínico.* 20a. edición. Vol. 1. Editorial Marbán, España. 2007. pp. 227, 228, 376, 378.

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Ed. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid. 1998. pp. 170-172.

Mahan, L. Kathleen. Escott-Stump, Sylvia: *Nutrición y dietoterapia de Krause*. 10a. edición. McGraw-Hill. México. 2001. pp. 427, 428.

Mc Kee, Trudy, Mc Kee James: *Bioquímica, la base molecular de la vida*. McGraw-Hill. España. 2009. pp. 407-409.

Mongomery Rex (*et al*): *Bioquímica. Casos y textos.* Ed. Harcourt Brace. España. pp. 358-365.

Morrison Treseler Kathleen. *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico*. Ed. El Manual Moderno. México. 1998. pp. 346-349.

Murray Robert K. (*et al*): *Bioquímica ilustrada. Harper.* El Manual Moderno. 28ª edición. México. 2010. pp. 212-223.

Peter Schwandt, Profr. Dr. Med., University of Munich. Fundation for the Prevention of Atherosclerosis German Lipid League. "Triglycerids. A risk factor for cardiovascular disease". 2003. pp. 10-11.

Shils, Maurice E. Olson, James A. Shike, Moshe. Ross A: Catharine. *Nutrición en salud y enfermedad*. 9ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2002. pp. A-60 y A-61.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio.* 4a. edición. pp. 666, 677.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 9

Pruebas diagnósticas y de control del paciente diabético

METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos de la dieta contienen azúcares simples como hexosas (glucosa, fructosa, galactosa), disacáridos (sacarosa, lactosa, maltosa) y polisacáridos (almidón). La actividad intestinal digiere el almidón convirtiéndolo en hexosas y degrada los disacáridos, que se transforman en hexosas, de las que la glucosa representa la hexosa principal (figura 9-1).

La glucosa en las células es convertida en glucosa-6-fosfato por la actividad enzimática de hexocinasa intracelular.

Una vez que ingresa en la célula, la glucosa puede seguir diferentes vías posibles:

- Almacenamiento como glucógeno.
- Glucólisis aeróbica para formar piruvato y glucólisis anaeróbica para formar lactato.
- Oxidación para formar dióxido de carbono y agua, con lo que proporciona una fuente de energía mediante el ciclo del ácido cítrico (ciclo de Krebs).
- Conversión a ácidos grasos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

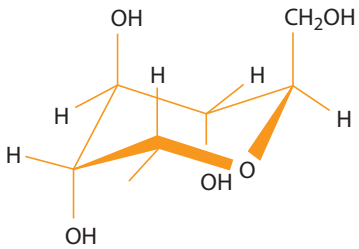


Figura 9-1. Estructura de una molécula de α D glucosa.

Absorción y digestión

La enzima amilasa secretada por las glándulas salivales hidroliza el almidón y el glicógeno a maltosa y otros oligosácaridos al actuar sobre los enlaces α (1→ 4) glucosídicos. La amilasa salival se inactiva cuando el pH es de 4.0 o menos.

Al llegar al estómago, esta enzima se mezcla con el bolo alimenticio y el jugo gástrico, inhibiéndose la acción de la amilasa salival debido al pH ácido.

La enzima más importante que interviene en este proceso en el intestino delgado es la amilasa pancreática. Algunas propiedades de ésta se parecen a las de la enzima salival, ya que ambas requieren del ion Cl^- y tienen un pH óptimo cercano de 6.6 a 6.8.

La acción de la α amilasa sobre el almidón como sustrato produce maltosa y dextrinas. Los disacáridos formados y los ingeridos con los alimentos son hidrolizados por enzimas provenientes de la superficie de la mucosa del intestino delgado hasta monosacáridos (principalmente hexosas, como glucosa, galactosa y fructosa) y pentosas. La fructosa es absorbida en el yeyuno por simple difusión y la glucosa y la galactosa por transporte activo de sodio; la fructosa y la galactosa son convertidas inmediatamente a glucosa y la mayor parte pasa a la sangre portal para ser transportada al hígado.

Almacenamiento. La glucosa puede utilizarse de inmediato para proporcionar energía o puede almacenarse en forma de glucógeno, principalmente en el hígado y en los músculos; el exceso de glucosa se convierte en ácidos grasos que son almacenados como triglicéridos en tejido adiposo.

Glucosa sanguínea. El nivel de glucosa sanguínea depende de la cantidad de glucosa que llega a la sangre proveniente de los alimentos, de la glucogenólisis y la gluconeogénesis, así como de los procesos oxidativos y biosintéticos. Las cifras sanguíneas se encuentran normalmente entre 70 a 110 mg/dL (3.85 a 6.05 mmol/L).

Alimentación. La ingestión de alimentos altera de manera inmediata el comportamiento metabólico de un estado catabólico a un estado anabólico. Un incremento mínimo de insulina estimula el almacenamiento de pequeñas moléculas derivadas de la dieta con objeto de sintetizar triglicéridos a partir de ácidos grasos, glucógeno a partir de glucosa y proteínas a partir de aminoácidos. Feling estimó que si se absorben 100 g de glucosa, 60 g serían retenidos

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

por el hígado para la síntesis de glucógeno, 25 g serían almacenados en tejido insulino-dependiente como músculo y tejido adiposo y 15 g serían incorporados por tejido no insulinodependiente como el sistema nervioso central.

Insulina. La insulina se deriva de una sustancia precursora denominada proinsulina. Este precursor es un polipéptido de cadena única compuesto por tres partes de cadena A con 21 aminoácidos, la cadena β con 30 aminoácidos y una cadena C conectora. La proinsulina es sintetizada constantemente por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas.

Sus funciones más importantes son la estimulación de la síntesis hepática de glucógeno, la estimulación de la transferencia de glucosa y aminoácidos desde la sangre hacia los tejidos insulinodependientes para su almacenamiento y además inhibe procesos catabólicos tales como la glucogenólisis, la proteólisis y la lipólisis.

Hormonas que elevan la concentración de glucosa sanguínea

En los periodos de ayuno actúan las hormonas hiperglucémicas en respuesta a la disminución de los niveles sanguíneos de glucosa. Estas hormonas actúan sobre el metabolismo intermedio para formar glucosa a partir de las moléculas almacenadas (glucógeno, triacilglicéridos). Por lo tanto, las proteínas y el glucógeno son convertidos en glucosa (gluconeogénesis y glucogenólisis). La glucosa formada en el hígado representa la fuente más importante de glucosa sanguínea que no proviene de la dieta. Las hormonas hiperglucemiantes más importantes son glucagón, adrenalina, cortisol, tiroxina y hormona del crecimiento.

Glucagón. Es producido en las células alfa del páncreas. Esta hormona actúa en el hígado para acelerar la reactivación de la fosforilasa, enzima clave para la glucogenólisis. La degradación del glucógeno almacenado en el hígado es acelerada por el glucagón y provoca una rápida elevación sanguínea.

Adrenalina. Actúa activando la fosforilasa, enzima que activa la glucogenólisis; esta estimulación tiene lugar en hígado y en músculo.

El cortisol y otros corticosteroides aumentan la velocidad de la gluconeogénesis a partir de proteínas y aminoácidos. Ésta produce una elevación de los niveles sanguíneos de glucosa en el hígado.

La tiroxina y ciertas hormonas actúan en el proceso del crecimiento; otras hormonas actúan en forma similar a los corticosteroides.

Hiperglucemia. Se denomina así al aumento de glucosa sanguínea que supera los 126 mg/dL (7.0 mmol/L). La ingesta de alimento aumenta la glucosa sanguínea en forma transitoria, lo que incrementa la secreción de insulina e inhibe la del glucagón.

La insulina hace regresar a la glucosa sanguínea a sus niveles normales. Si la glucosa permanece en valores de 126 mg/dL o más y si este aumento no es transitorio, existe hiperglucemia.

Diabetes mellitus. Trastorno del metabolismo de los carbohidratos caracterizado por hiperglicemia y glucosuria.

Se clasifica en diabetes tipo 1 y diabetes tipo 2.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Otros procesos patológicos que pueden causar hiperglicemia y que se encuentran asociados con ciertas condiciones y síndromes son diabetes pancreática, diabetes inducida por drogas o sustancias químicas, endocrinopatías y diabetes gestacional (intolerancia a la glucosa durante el embarazo).

En esta unidad se definen las diabetes tipo 1 y tipo 2, así como su diagnóstico y control.

Los diabéticos tipo 1 carecen esencialmente de síntesis de insulina. En consecuencia, son incluidos dentro de la categoría de pacientes insulinodependientes. Éstos representan aproximadamente 10% de todos los casos de diabetes en EUA. La causa es una destrucción autoinmune de las células β productoras de insulina de los islotes pancreáticos, que provoca una deficiencia absoluta de la insulina. Existe una susceptibilidad genética para desarrollar este tipo de diabetes.

Los diabéticos tipo 2 no dependen de la insulina para la preservación de la vida. Los pacientes conservan la capacidad secretora de insulina, pero en presencia de hiperglucemia la respuesta ocurre en forma retardada y se presenta dificultad en los receptores celulares para la glucosa. La diabetes tipo 2 es la más frecuente y afecta aproximadamente a 90% de los estadounidenses diabéticos.

El diagnóstico de diabetes mellitus puede realizarse midiendo la concentración de glucosa en plasma. El requisito para llevar a cabo este examen es que el paciente debe tener 8 h de ayuno y de reposo. Se considera hiperglicemia cuando las cifras de glucosa son ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L). Si los niveles de glucosa plasmática son anormales en dos o más ocasiones, puede establecerse el diagnóstico de diabetes, de acuerdo con los lineamientos asignados por la *American Diabetes Association*.

La *American Diabetes Association* recomienda determinaciones de glucosa en plasma en ayuno cada 3 años a pacientes con los siguientes riesgos: antecedente familiar, obesidad, etnia de alto riesgo, sujetos mayores de 45 años, hipertensos, con colesterol (HDL ≤ 35 mg/dL; 0.90 mmol/L), triglicéridos (≥ 250 mg/dL; 2.28 mmol/L), diabetes gestacional o parto cuyo producto pese más de 4 kg.

Hipoglucemia. Síndrome caracterizado por bajos niveles plasmáticos de glucosa asociados con síntomas que desaparecen con la ingesta de alimentos que contienen carbohidratos.

Se presentan niveles de 45 mg/dL (2.5 mmol/L) o inferiores y que son patológicos.

Las causas de la hipoglucemia pueden ser evaluadas por medio de la prueba de 5 h de tolerancia a la glucosa.

PRUEBA PARA DIAGNÓSTICO DE DIABETES

Existen varias pruebas para el diagnóstico de hiperglucemia:

- Medición de glucosa sanguínea en ayuno.
- Medición de glucosa posprandial (2 h).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

- Medición de glucosa en orina.
- Prueba de tolerancia a la glucosa.
- Medición de insulina en sangre.

Métodos enzimáticos para glucosa

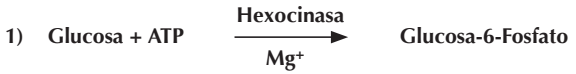
Los procedimientos más comunes utilizados para el análisis de glucosa emplean enzimas como reactivos, a fin de aumentar la especificidad de reacción. Actualmente se realiza la medición de glucosa mediante tres sistemas enzimáticos: glucosa-deshidrogenasa, glucosa-oxidasa y hexocinasa. En algunos produce una corriente eléctrica proporcional a la concentración de la glucosa y en otros se forma un producto que puede medirse mediante espectrofotómetro.

Método de glucosa-deshidrogenasa

La glucosa es utilizada para reducir un cromóforo que permita ser medido en un espectrofotómetro o generar corriente.

Método de hexocinasa

Este método posee un elevado grado de especificidad para la determinación de la glucosa, ha sido propuesto como método de referencia y mide la glucosa a partir de la formación de NADPH con base en la siguiente reacción:



Método de glucosa-oxidasa/peroxidasa

Este método es muy específico en el caso de la α-D-glucosa que se encuentra en orina o plasma; reacciona con la enzima glucosa-oxidasa y en una segunda reacción actúa la peroxidasa, donde se produce un color proporcional a la concentración de glucosa. Es importante verificar la presencia de ácido ascórbico en los líquidos biológicos donde se realice la determinación, ya que la presencia de dicho ácido provoca resultados falsos. El método presenta las siguientes reacciones:

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Método del electrodo glucosa-oxidasa-oxígeno

En este método, la reacción de la glucosa con el oxígeno es monitorizado mediante un electrodo sensible al oxígeno y se evalúa la tasa de consumo de oxígeno.

Nivel posprandial a las 2 h de glucosa en el plasma

Para diagnosticar y vigilar el control de la glucosa se ha utilizado la medición en ayuno y 2 h después de una ingesta de glucosa. Normalmente, el incremento máximo del nivel plasmático de glucosa después de una comida se produce entre 60 y 90 minutos y a las 2 h los niveles son similares a los valores obtenidos en ayuno (figura 9-2).

Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO)

Esta prueba consiste en administrar una sobrecarga oral de glucosa para establecer el diagnóstico de hipo o hiperglucemia. Se administran 75 g de dextrosa anhidra por vía oral a adultos y 1.75 g de dextrosa por kilogramo de peso ideal en niños obesos, sin exceder los 75 g.

Requisitos previos a la realización de la prueba

- La dieta durante tres días antes de la prueba debe contener al menos 150 g de carbohidratos por día.
- Queda prohibida la ingesta de alcohol.

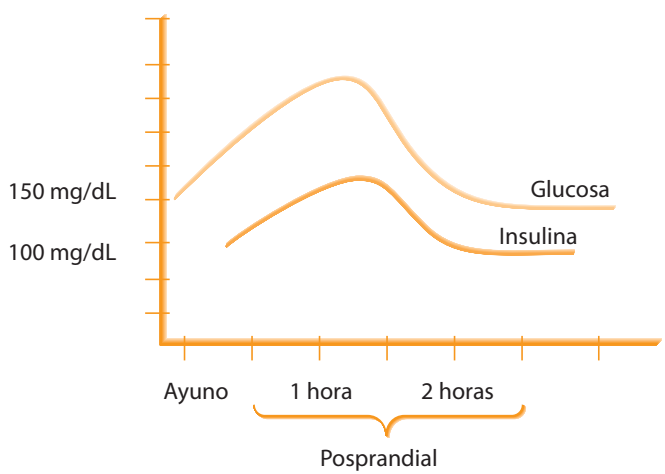


Figura 9-2. Representación de curvas de glucemia e insulinemia.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

- No es conveniente realizar la prueba durante la recuperación de una enfermedad aguda, estrés emocional, cirugía o traumatismos.
- Ayuno al menos de 10 h pero no más de 16 h.
- Reposo durante la noche anterior (10 h).
- Suspender tres días antes la medicación que pueda interferir con los resultados de la prueba (corticoides, anticonceptivos, diuréticos, entre otros).
- Medir los niveles de glucosa en orina.
- La carga de glucosa que se le da al paciente debe ser bebida en el curso de 5 min.

Procedimiento:

1. Se toma sangre en ayuno (tiempo cero).
2. Se le da al paciente la bebida de glucosa.
3. Se realiza una extracción de sangre 30 min después de la bebida.
4. Se realiza una extracción de sangre 60 min después de la bebida.
5. Se realiza una extracción de sangre 120 min después de la bebida.
6. Se realiza una extracción de sangre 180 min después de la bebida.

Evaluación de los resultados. Los criterios de normalidad son que las sumas de los valores de glicemia a los 60 y 120 minutos no sobrepasen los 300 mg/dL (16.9 mmol/L).

Determinación de insulina en el plasma (C-péptido)

La insulina del plasma, medida en condiciones basales por la técnica radioinmunológica, presenta normalmente una concentración que oscila entre 5 y 25 μU/mL (o 35 a 208 pmol/L en unidades SI). Después de administrar glucosa puede subir de 40 a 180 μU/mL. En adultos diabéticos obesos la insulinemia basal suele ser alta (250 μU/mL o más), mientras que en la diabetes tipo 1 se observa una disminución de la insulina en ayuno, pero sobre todo una falta de respuesta a la glucosa.

C-péptido del plasma. Es secretado en forma equimolecular con la insulina en la circulación portal y su medición se utiliza para estudiar la función de las células β del páncreas. El C-péptido forma parte de la proinsulina antes de desdoblarse y salir a la circulación. Su determinación permite indagar la actividad secretora de las células β del páncreas. Esta medición es útil aun en los enfermos insulino dependientes ya que es un índice indirecto de la secreción de insulina endógena residual

En ayuno presenta por lo regular niveles de 2.10 ± 0.54 ng/mL. El C-péptido pospandrial normal sube a 4.2 ± 1.8 ng/mL.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

PRUEBAS DE CONTROL DEL PACIENTE DIABÉTICO

- Glucosa en ayuno.
- Monitoreo de glucosa en sangre durante el día.
- Hemoglobina glucosilada.
- Fructosamida.
- Glucosuria.
- Albuminuria.
- Microalbuminuria.

Monitoreo de glucosa en sangre. Este monitoreo se realiza mediante técnicas de química seca, en las que las tiras reactivas contienen glucosa oxidasa y peroxidada; al contacto con la glucosa, la tira reactiva cambia de color, cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de glucosa. La tira reactiva es introducida en el glucómetro y en un lapso de 30 a 60 segundos aparece la lectura de la concentración de glucosa en unidades convencional o del Sistema Internacional (figura 9-3).

Hemoglobina glucosilada (Hb A1c)

La hemoglobina se glucosila mediante un proceso no enzimático, cuando la glucosa ingresa al eritrocito. La hemoglobina A tiene tres subfracciones: 1a, 1b y 1c; éstas pueden separarse mediante cromatografía con resina de intercam-

Figura 9-3. Glucómetro.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

bio iónico y cuantificarse por espectrofotometría. Las subfracciones 1a y 1b se glucosilan con otras hexosas; sólo la A1c se une con la molécula de glucosa.

La *International Federation of Clinical Chemistry Working Group on* HbA1c la define como la hemoglobina A que se glucosila de manera irreversible en una o varias valinas N-terminales de las cadenas β de la molécula tetramérica de hemoglobina, e incluye también residuos glucosilados de lisina.

Evaluación de los resultados. Los individuos no diabéticos generalmente tienen niveles de HbA1c entre 4 y 6%. Según datos del Estudio de Control y Complicación de la Diabetes (DCCT), reportado por Knudson *et al.* (2007), la correlación entre HbA1c y los promedios de glucosa en sangre es la siguiente:

La utilidad de esta prueba estriba en que brinda información acerca de la media de los niveles de glucosa plasmáticos durante dos o tres meses antes de su realización (cuadro 9-1).

Datos del Estudio de Control y Complicación de la Diabetes (DCCT) han demostrado que el mantenimiento de valores bajos de glucosa en pacientes diabéticos tipo 1 disminuye o previene el desarrollo de retinopatías, neuropatías y neuropatías.

Los métodos utilizados para su medición son por cromatografía de intercambio iónico, electroforesis e inmunoanálisis.

FRUCTOSAMINA

Las pruebas de fructosamina se utilizan para evaluar el control de la glicemia a corto plazo (de 3 a 6 semanas) debido a que la vida media de las proteínas es de 2 a 3 semanas**.** Esta prueba no debe realizarse si la albúmina en suero es igual o inferior a 3.0 g/dL, o ante la presencia de cifras altas de bilirrubina o ácido úrico. Las proteínas que están en contacto con concentraciones elevadas de glucosa durante un tiempo prolongado se glucosilan.

El fundamento de la prueba de la fructosamina es la unión lenta no enzimática entre el grupo aldehído de la glucosa y el grupo amino de los aminoácidos.

Cuadro 9-1. Relación de HbA1c y glucosa plasmática

Hemoglobina A1c (%)	Glucosa en sangre (mg/dL)
6	120
8	180
10	240
12	300
14	360

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Después de la unión tiene lugar una isomerización de la glucosa a fructosa, que finalmente da por origen fructosamina.

Las cifras de referencia para la prueba de fructosamida son:

- Adulto no diabético = 2.4. a 3.4 mmol/L.
- Cociente fructosamina/albúmina = 54-86 µmol/g.

MICROALBUMINURIA (MICROPROTEINURIA)

Excreción anormal de albúmina en ausencia de proteinuria clínica. Los factores principales que determinan la microalbuminuria son la presión hidrostática del capilar glomerular y su permeabilidad selectiva.

En los diabéticos tipo 1 la microalbuminuria es un dato bioquímico que se presenta en el inicio de un daño glomerular y que pudiera ser reversible; sirve para el pronóstico del desarrollo de complicaciones tales como problemas cardiovasculares y aumento de la presión arterial.

Cuando se presenta albuminuria con niveles de 20 a 200 mg/L, es difícil de detectar con las técnicas convencionales, pero es posible hacer las mediciones en forma cuantitativa o semicuantitativa mediante tiras reactivas (*Micral-Test*), por pruebas colorimétricas y de precipitación. Su detección reviste gran importancia preventiva, ya que la albuminuria es el primer signo que se presenta en la lesión renal del paciente diabético insulinodependiente. La hipertensión puede ser un signo de lesión renal (Mathiensen *et al*). La microalbuminuria es un indicador sensible del daño renal y cardiovascular en hipertensos y diabéticos.

GLUCOSURIA

La presencia de glucosa en orina se denomina glucosuria y se manifiesta cuando los niveles de la concentración de glucosa en sangre rebasan los 160 a 180 mg/dL, cantidades que los túbulos renales no podrán reabsorber y termina por eliminarse. Se puede detectar con tiras reactivas cuya función se basa en la reacción enzimática con el reactivo de glucosa-oxidasa y lo normal es que no se elimine por la orina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

EJERCICIO

Indicadores del paciente con diabetes

1. ¿Cuál es el valor límite que considera actualmente el *National Diabetes Data Group* para la glicemia en el diagnóstico de diabetes mellitus?

2. Señale cuáles son las hormonas que se requieren para el control de la glucosa sanguínea en un organismo humano normal.

3. Describa en qué consiste la resistencia a la insulina.

4. Cite cuáles son los principales indicadores bioquímicos para el diagnóstico de la diabetes.

5. Describa en qué consiste el umbral renal para la glucosa.

6. ¿Qué es la microalbuminuria?

7. Refiera cuáles son los métodos analíticos utilizados con mayor frecuencia en el laboratorio para medir hemoglobina glucosilada (HbA1c), así como sus valores de referencia.

8. ¿En qué patologías del paciente se indica medir la fructosamida sustituyendo la medición de hemoglobina glucosilada?

9. Describa en qué consiste la prueba de curva de tolerancia a la glucosa.

10. ¿A qué personas se les practica la prueba de glucosa posprandial?

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19a edición. Masson. 2002. pp. 335, 336, 339, 341.

Bernard Henry, John: *El laboratorio en el diagnostico clínico.* 20a. edición. Vol. 1. Editorial Marbán. España. 2007. pp. 216-218, 227, 228, 376, 378.

Díaz Portillo, Jacobo (*et al*): *Determinaciones bioquímicas: utilidad y valoración clínica*. Ed. Masson. España. 2004. pp. 13-16.

Diabetes control and complications trial: Epidemiology of diabetes interventions and complications research group intensive diabetes therapy and carotid intimamedia thickness in type 1 diabetes mellitus. N Engl J Med 2003; 348: 2294-303.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica clínica*. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid. 1998. pp. 343-348, 351, 352.

Mathiesen, E. R., Saurbrey, N.,E. Hommel: Prevalence of microalbuminuria in childrenwith Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1986;29:640-643.

Mongomery Rex (*et al*): *Bioquímica. Casos y textos.* Ed. Harcourt Brace. España. pp. 109, 214, 215.

Morrison Treseler Kathleen: *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico*. Ed. El Manual Moderno. México. 1998 pp. 19-24.

Murray Robert K. (*et al*): *Bioquímica de Harper*. 17ª edición. El Manual Moderno. México. 2007. pp. 230-236.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. 4ª edición. pp. 784, 789, 790.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 10

Enzimas de interés clínico

ENZIMOLOGÍA CLÍNICA

La enzimología clínica es uno de los cambios más importantes de la bioquímica clínica, que se ha desarrollado recientemente gracias a las aportaciones de la enzimología teórica y a los procesos tecnológicos. La determinación de las actividades enzimáticas suministra al médico importante información diagnóstica. Esta faceta ha sido uno de los factores que ha modificado de manera considerable la función del laboratorio en numerosas especialidades médicas. Actualmente, en los grandes laboratorios hospitalarios los análisis enzimáticos pueden representar hasta 20% de la carga total de pruebas bioquímicas. Los laboratorios de bioquímica clínica suelen determinar entre 12 y 15 enzimas diferentes.

Consideraciones generales

Las enzimas son proteínas que catalizan las reacciones biológicas que tienen lugar en los seres vivos sin alterar el equilibrio de la reacción. En general, las reacciones catalizadas por enzimas son específicas y esenciales para las funciones fisiológicas.

Las enzimas se encuentran en todos los tejidos corporales y aparecen en el plasma como consecuencia de una lesión celular. Algunas enzimas, como las que participan en la coagulación, son específicas del plasma y aparecen en éste en concentraciones significativas. Por lo tanto, las mediciones de la actividad enzimática en suero son útiles en el diagnóstico de enfermedades específicas o de anomalías fisiológicas.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Actividad enzimática en suero

Las enzimas halladas en el plasma pueden dividirse en dos grupos principales:

1. Enzimas específicas del plasma.
2. Enzimas no específicas del plasma.

Enzimas específicas del plasma

Son enzimas funcionales del plasma que se encuentran en mayor concentración en el plasma, por ser donde realizan su función.

Entre estas enzimas se encuentran:

- Enzimas de la coagulación.
- Colinesterasa (seudocolinesterasa).
- Ceruloplasmina.
- Lipoproteína-lipasa (LPL).

Estas enzimas son sintetizadas en el hígado, el que las libera de manera continua al plasma para mantener una concentración constante.

Enzimas no específicas del plasma

Estas enzimas no son funcionales en el plasma. Se encuentran en muy baja concentración en el plasma, ya que predominan dentro de las células de diferentes tejidos. Estas enzimas se dividen a su vez en dos grupos:

- Enzimas de secreción.
- Enzimas constitutivas.

Enzimas de secreción. Se utilizan como indicadores de mal funcionamiento del órgano que las secreta. Se presentan valores elevados cuando el mecanismo de excreción está bloqueado o cuando aumenta la producción de enzima. La disminución en la concentración de enzima es un claro signo de que los tejidos que las producen han sufrido daño o necrosis. La amilasa, la fosfatasa ácida, la fosfatasa alcalina y la lipasa pancreática son algunos ejemplos de enzimas de secreción.

Las enzimas del metabolismo intermedio se denominan enzimas constitutivas. Su concentración en los tejidos es muy elevada y en el plasma se encuentran en el plasma en pequeñas concentraciones. Cuando existe daño celular o necrosis, las enzimas se filtran al plasma, lo que permite hacer el diagnóstico del tejido lesionado que contiene la enzima específica.

Algunos ejemplos de enzimas no funcionales del plasma de tipo constitutivo son: creatina-fosfocinasa (CPK), lactato-deshidrogenasa (LDH), alanina-aminotrasferasa (ALT) y aspartato-aminotransferasa (AST).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Existen factores que afectan los valores enzimáticos de referencia, los cuales deben ser considerados para no formular un diagnóstico equivocado. Los factores más significativos son edad, sexo, raza y actividad física.

Edad

Si la edad constituye un factor importante en la medición enzimática, deben considerarse tres etapas principales: el primer año de vida, periodo en el que diversos órganos (como el hígado) se hallan en etapa de maduración; la segunda etapa es la pubertad y, finalmente, los últimos años de la edad mediana. En estas etapas se producen cambios hormonales; por ejemplo, la enzima fosfatasa alcalina reporta los siguientes valores utilizando el método de Bowers y McComb a 30°C: 135 a 270 U/I en niños de 6 a 12 meses, 90 a 320 U/L en individuos de 10 a 18 años y 40 a 100 U/L en adultos.

Sexo

Algunas enzimas presentan cambios según el sexo, como la CPK, (creatinafosfocinasa), para la cual se han encontrado intervalos de referencia superiores en los varones que en las mujeres, debido probablemente a la mayor masa muscular.

Raza

Existen pocas investigaciones acerca de estos datos, pero en la medición de la enzima CPK se han encontrado intervalos de referencia mayores en poblaciones negras que en blancas. Tal vez influyan otros factores que no guardan relación con la raza en ambas poblaciones.

Actividad física

Los aumentos de la CPK registrados después del ejercicio desaparecen luego de 2 a 24 h. Sin embargo, esto varía en el ejercicio extremo; por ejemplo, en los corredores de grandes distancias se halló que la CK-MB (miocardio) es tres veces mayor que la usual y la CK total es 40 veces mayor que la habitual.

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Debido a que las enzimas se regeneran al final de su acción y a su presencia en los líquidos biológicos (aunque en muy pequeñas cantidades), las enzimas se determinan por su actividad más que en función de su concentración. La actividad enzimática puede realizarse en el laboratorio clínico de diferentes maneras:

1) Midiendo la desaparición del sustrato.
2) Midiendo la aparición del producto.
3) Midiendo el gasto de la coenzima.
4) Producción de una determinada coenzima, acoplada a la reacción principal.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Mediciones enzimáticas

Los dos métodos más comúnmente empleados son los de una sola determinación a tiempo fijo (denominados métodos de punto final) y los de varias determinaciones a tiempos fijos, o métodos cinéticos (figura 10-1).

Métodos de punto final

Los métodos de punto final se incuban el suero y el sustrato a temperaturas constantes durante 30 minutos y transcurrido este lapso la reacción se detiene por adición de otro reactivo, se mide el producto final y es independiente del sustrato (reacción de orden cero).

Método cinético

Mediante este método se mide la formación del producto minuto a minuto durante la velocidad de la reacción, que dura de 3 a 5 minutos.

La ventaja de este método es que se presenta en ausencia de productos secundarios que pueden interferir o inhibir la reacción y además es más rápido y confiable. Además, se basa en la propiedad que tiene la coenzima ($NADH_2$ y $NADPH_2$) de absorber la luz a una longitud de onda de 340 nm, mientras que las formas oxidadas no la absorben a esta misma longitud de onda (figura 10-2). Este método puede utilizarse en las reacciones enzimáticas en que intervienen

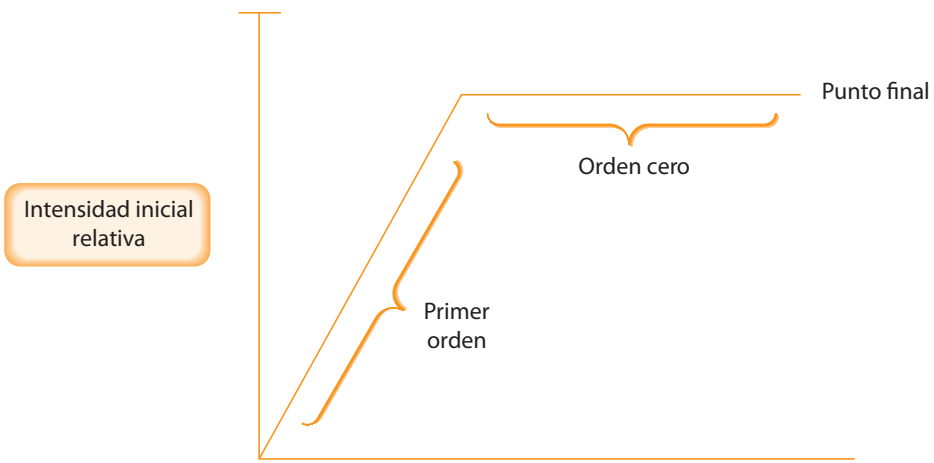


Figura 10-1. Medición de la actividad enzimática en el laboratorio.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

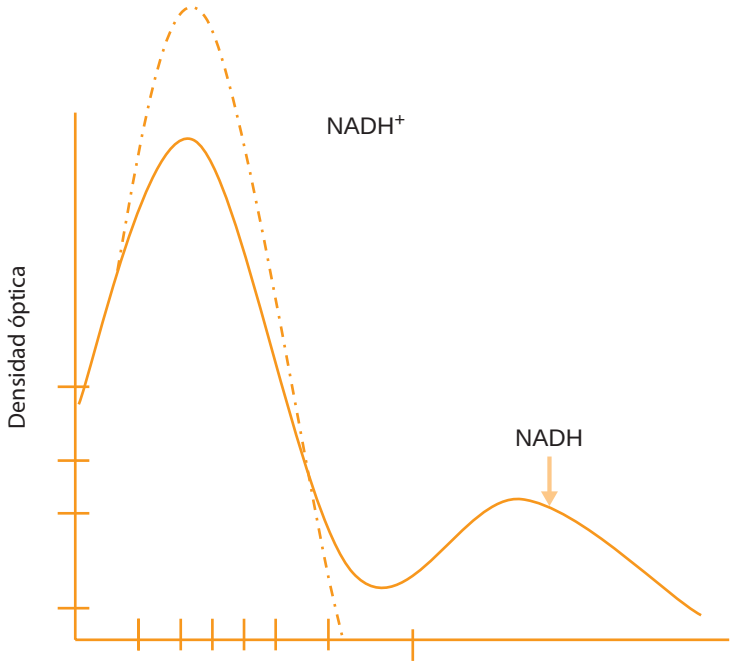
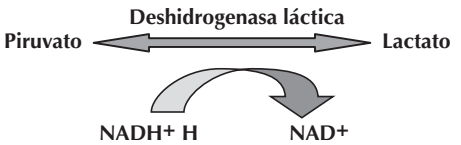


Figura 10-2. Espectro de absorción del NAD^+ y NADH.

NAD^+ o $NADP^+$, en las que el aumento o disminución de la absorción de estas coenzimas son directamente proporcionales a la actividad de la enzima que habrá de medirse. Las enzimas que no utilizan estas coenzimas pueden cuantificarse acoplando una segunda reacción enzimática a la que se añaden las coenzimas (NAD^+ o NADH). Un ejemplo de este método cinético es la medición de la deshidrogenasa láctica en suero.



Unidad Internacional

En 1961, la Comisión de Enzimas recomendó la adopción de una unidad internacional de actividad enzimática. U = se define como la cantidad de enzima que convierte 1 micromol de sustrato por minuto en condiciones estandarizadas.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Katal

El sistema internacional de unidades (SI) adoptado originalmente por la OMS estableció el katal (K) como unidad de actividad enzimática, que se define como 1 mol/seg de sustrato trasformado. Esta unidad es demasiado grande para ser utilizada clínicamente, por lo que ha tenido escasa aceptación en EUA, si bien ha sido recomendada por la Comisión de Enzimas en 1972. Estas unidades internacionales han sido adoptadas por la mayoría de los investigadores en el campo de la enzimología clínica, así como en publicaciones especializadas tales como libros y artículos científicos que exigen el uso de unidades internacionales.

Enzimas no específicas del plasma utilizadas para evaluación clínica

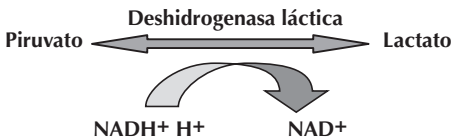
Deshidrogenasa láctica

La deshidrogenasa láctica presenta dos subunidades diferentes: "H" (*heart*, corazón) y "M" (músculo). La LDH activa es un tetrámero compuesto por cuatro subunidades. Mediante electroforesis pueden identificarse cinco enzimas, así como la distribución cuantitativa de las isozimas de la LDH (electroforesis en gel de poliacrilamida).

- LD1 ⟶ 26.9 %
- LD2 ⟶ 43.4 %
- LD3 ⟶ 19.2 %
- LD4 ⟶ 2.5 %
- LD5 ⟶ 1.7 %

La fracción LD_1 predomina en el músculo cardiaco y la fracción LD_5 se relaciona con el tejido hepático. Las mediciones de rutina miden las cinco isozimas en el suero, es decir, el total de todas las fracciones de la enzima deshidrogenasa láctica.

En esta reacción se observa cómo catalizan el piruvato a lactato.



La DHL está ampliamente distribuida en todos los tejidos y es más abundante en miocardio, riñón, hígado y músculo.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cifras de referencia

DHL = 125 a 270 U/L a 30°C. Las cifras varían según el fabricante del reactivo y la temperatura.

La DHL se eleva en el plasma de 2 a 40 veces al valor normal en anemia megalobástica, shock grave y en anoxia y de 2 a 4 veces en infarto al miocardio, infarto pulmonar, leucemia granulocítica, anemia hemolítica y distrofia muscular progresiva. Se observan ligeras elevaciones en hepatitis, ictericia obstructiva y cirrosis.

Después del infarto, la concentración sérica se eleva dentro de las 24 h siguientes al evento y regresa a su valor normal en un lapso de 5 a 6 días.

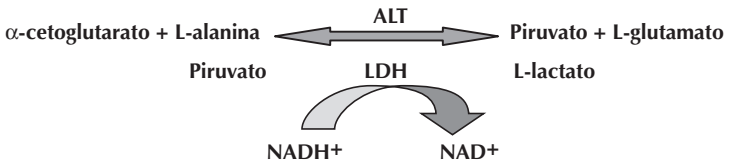
Aminotransferasas (transaminasas)

Estas enzimas, antes denominadas transaminasas, catalizan la reacción reversible de un grupo α-amino de un aminoácido a un α-cetoácido. Se han descrito dos aminotransferasas en el suero: el aspartato aminotranferasa (AST) o transaminasa glutámico oxalacético (TGO) y la alanín-amino transferasa (ALT) o transaminasa glutámico pirúvico (TGP); ambas enzimas requieren piridoxalfosfato como cofactor.

Alanina aminotransferasa (ALT)

Cataliza la transferencia reversible del grupo amino desde L-alanina al α-celoglutarato. Las cifras de referencia de la ALT son de 5 a 30 U/L a 30°C. Esta enzima puede determinarse por dos métodos:

- **Método directo o de punto final.** Este es un método colorimétrico que depende de la formación de oxalacetato, al cual se le agrega dinitrofenil hidrazona a pH alcalino, con lo que adopta un color café que se mide espectrofotométricamente a 500 nm; cuando se presenta una lectura de mayor densidad de color, existe mayor cantidad de oxalacetato y por lo tanto más actividad enzimática.



- **Método indirecto (Karmen).** Éste se realiza por otra reacción de acoplamiento (cinético) en la que se mide mediante el espectrofotómetro el cambio de $NADH^+$ H a NAD^+ que es directamente proporcional a la actividad de la ALT. Esta reacción de tipo cinético mide la disminución de absorción a 340 nm.

La ALT tiene una vida media de 47 h en sangre y se encuentra en grandes cantidades en hígado y en menor cantidad en miocardio y músculo esquelético.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Asimismo, aumenta de 10 a 200 veces el valor normal en la ictericia poshepática y en la colestasis interhepática.

Aspartato aminotransferasa (AST)

Cataliza la transferencia reversible del grupo amino desde el aspartato al α-cetoglutarato.

La enzima AST se encuentra en el tejido cardiaco, hepático, músculo-esquelético, tejido renal y cerebral en concentraciones decrecientes.

Las enfermedades donde se observa gran aumento de AST en suero es en infarto de miocardio y necrosis músculo-esquelética y en menor proporción en la anemia hemolítica y pancreatitis.

La isoenzima mitocondrial de la AST es la mAST y en las células hepáticas representa aproximadamente 80% de la actividad total de la AST; sin embargo, cabe recordar que tanto la AST como la ALT son citoplasmáticas. Existe gran interés en el uso del cociente mAST/AST total como marcador de consumo crónico de alcohol.

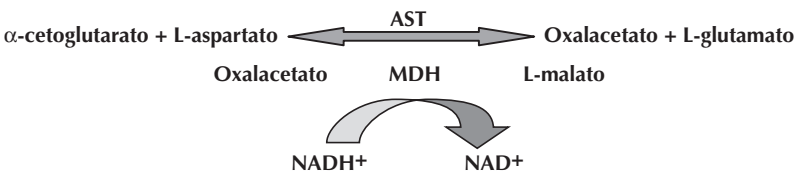
Otro dato es el cociente AST/ALT o cociente de DeRitis, que por lo regular es de 1, pero que puede utilizarse como indicador de enfermedad alcohólica hepática cuando se encuentra un cociente AST/ALT de 3 a 4 y cuando se presentan cifras casi normales de ALT (González de Buitrago, 2001).

Rangos de referencia y variaciones analíticas de la ALT y AST

Las cifras de referencia de la AST son 4 a 24 U/L a 30°C. En la interpretación de las cifras de referencia hay que tomar en cuenta que pueden presentarse cambios debido a factores como la edad, el sexo y la actividad física. A continuación se enuncian algunas causas por las que pueden presentarse variaciones en las enzimas ALT y AST:

- Antes de los 15 años los niveles de ALT son mayores que las de AST.
- El ejercicio (principalmente en entrenamiento de fuerza) causa aumento de hasta tres veces de la AST y en menor medida de la ALT.
- El aumento de la masa corporal se relaciona con el de las cifras de referencia de la AST y ALT (entre 40 y 50%).
- La hemólisis aumenta los niveles de AST y ALT.
- Las cifras de la AST son superiores en varones de ascendencia de raza africana, pero no hay variación de la ALT.
-

La AST puede determinarse mediante la reacción de acoplamiento por el método indirecto.



© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

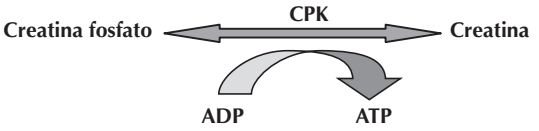
Creatín Fosfo-Cinasa (CPK) (CK)

En el humano existen tres isoenzimas diméricas diferentes compuestas de protómeros M (músculo) y B (cerebro), que son:

- CPK_1 (BB). ⟶ Tipo cerebral.
- CPK_2 (MB). ⟶ Característica de miocardio.
- CPK_3 (MM). ⟶ Músculo esquelético.

En el suero normal, 95% de la actividad de CPK existe en forma de CPK_3.

Cataliza la siguiente reacción:



Se concentra en el músculo esquelético, en el miocardio y el cerebro. La actividad CPK del plasma varía incluso en personas sanas y puede elevarse significativamente después de realizar ejercicio. Alcanza su nivel máximo después de 1-2 días y debe considerarse que cuanto más intenso es el ejercicio, más se eleva la actividad total de la CPK.

Los procesos patológicos, como la necrosis o regeneración del músculo y las miopatías, pueden causar aumentos significativos de la CPK plasmática. Los valores de referencia en varones son hasta de 174 U/L y en mujeres ascienden hasta 140 U/L.

La CK^2 (MB) aparece en el suero del paciente después de un infarto agudo de miocardio. Surge en un periodo aproximado de 4 a 8 h, alcanza su máximo de 12 a 24 h y puede persistir hasta 72 h.

La separación de las isozimas se logra mediante la técnica denominada electroforesis (agarosa); otra técnica es la inhibición de isozimas y se mide exclusivamente la CK^2 (MB). Las cifras de referencia son de menos de 10 U/L.

El aumento de la CK^3 (MM) se detecta en el suero de pacientes con traumatismo muscular; incluye inyecciones intramusculares y shock y se presenta en el periodo postoperatorio (figura 10-3).

Fosfatasas (ALP)

Las fosfatasas de la sangre (denominadas con mayor propiedad fosfomonosterasas) son principalmente de dos tipos: lafosfatasa alcalina, que actúa a un pH óptimo de aproximadamente 9 y la fosfatasa ácida, cuya actividad óptima a un pH aproximado es de 5. Ambas actúan sobre los ésteres de fosfato liberado (fosfato inorgánico).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

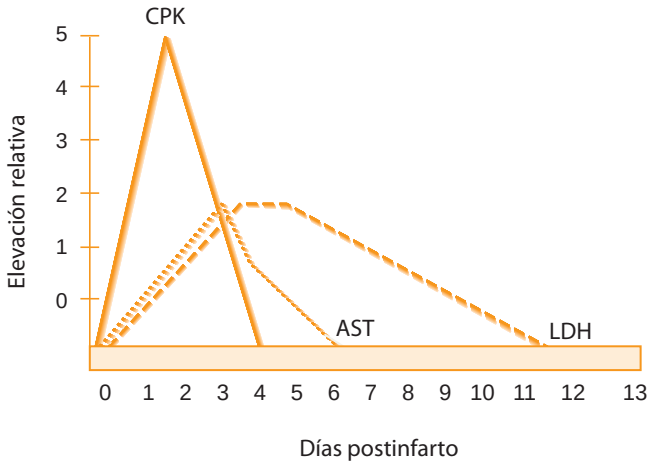


Figura 10-3. Perfil de enzimas cardiaca.

Fosfatasa alcalina

Esta enzima se localiza principalmente en células osteoblásticas, en hígado, bazo, riñón e intestino y en la placenta durante el embarazo.

Existen dos isoenzimas derivadas del hígado: una del hepatocito y otra de la superficie exterior de la membrana canicular biliar.

La fosfatasa alcalina reporta altos niveles en enfermedades hepatobiliares tales como ictericia obstructiva, cirrosis biliar, hepatitis vírica y cirrosis alcohólica.

Desde hace muchos años se sabe que el aumento de la fosfatasa no se debe a la obstrucción del hígado, sino a un aumento de la síntesis de novo de fosfatasa alcalina.

Generalmente, el aumento de fosfatasa anuncia el inicio de ictericia clínica. Los aumentos de la fosfatasa en plasma no son señal de enfermedad hepática, ya que se producen aumentos moderados en enfermedades óseas como osteítis deformante, raquitismo, osteomalacia y sarcoma osterogénico, en procesos como fracturas en consolidación y en procesos fisiológicos tales como el crecimiento óseo de la niñez, la adolescencia y en el último trimestre de embarazo.

Se presentan bajas cifras en suero en pacientes con hipofosfatasia, por error congénito del metabolismo y en enfermos desnutridos.

Al respecto, se han obtenido los siguientes valores por el método de Bowers y Mc Comb a 30°C:

- De 135 a 270 U/L en niños de 6 meses a un año de edad.
- De 90 a 320 U/L en el subgrupo de individuos de 10 a 18 años.
- De 40 a 100 U/L en adultos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Medición de fosfatasa alcalina

Esta medición puede realizarse por el método de punto final o por el método cinético usando el 4-nitrofenil-fosfato como sustrato. La medición de isozimas de fosfatasa (hueso, hígado) se realiza por electroforesis utilizando como estabilizadores gel de poliacrilamida y celulosa.

Fosfatasa ácida (ACP)

Esta enzima se halla en grandes cantidades en el tejido prostático, así como en los eritrocitos y las plaquetas. Se observan valores elevados en el suero de pacientes con carcinoma prostático. Los niveles de isozima prostática se utilizan en el seguimiento de pacientes que reciben tratamiento. Las cifras de referencia de fosfatasa ácida son de 0.13 a 0.63 U/L a 37°C. El método para la detección de fosfatasa ácida es similar al utilizado para fosfatasa alcalina, excepto que se realiza a un pH de 5.

Gamma-glutamiltransferasa (γGT)

Esta enzima microsomal regula el transporte de aminoácidos a través de la membrana celular, catalizando la transferencia de un grupo glutámico desde el glutatión a aminoácidos libres. Aunque se encuentra en la mayoría de los órganos corporales (excepto en el músculo), la actividad plasmática se atribuye fundamentalmente a la isoenzima hepática; su vida media es de 3 a 7 días.

La importancia clínica de esta enzima consiste en que cuando una fosfatasa alcalina sérica se halla elevada, por medio de la medición γGT puede confirmarse si el problema es de origen hepático, ya que en éste se eleva la γGT.

Otra utilidad de esta enzima es la relación de la γGT con el consumo crónico de alcohol. La γGT puede elevarse en pacientes con alcoholismo crónico debido a la inducción enzimática por el alcohol y al daño hepático. La γGT se eleva más en alcohólicos con enfermedad hepática y aproximadamente 50% de estos individuos presentan γGT elevada, la que generalmente vuelve a niveles normales después de 8 semanas de abstinencia.

El aumento de la γGT no se relaciona directamente con la cantidad de alcohol consumido ni con la duración de su consumo. Las cifras de referencia van de 10 a 41 U/L, o de 0.12 a 0.08 Katal/L.

5′-nucleotidasa

La 5'-nucleotidasa es una fosfatasa que actúa sobre nucleótidos como ATP y GTP. Esta enzima cataliza la hidrólisis de nucleósido-5'fosfato, libera fosfato inorgánico con un pH óptimo aparente de 7.5 y presenta la siguiente reacción:

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

La enzima se localiza fundamentalmente en la membrana canalicular biliar y su actividad plasmática aumenta en la colestasis. La principal ventaja de la enzima 5'-nucleotidasa en estudios de diagnóstico de problemas hepatobiliares es que no se eleva en las enfermedades óseas, enfermedad de Hodgkin durante el embarazo, o en periodos de rápido crecimiento óseo como la fosfatasa alcalina.

Como la γGT, la 5'-NT aumenta en las enfermedades hepatobiliares, como la obstrucción por cálculos biliares, la colestasis, la cirrosis biliar y la enfermedad obstructiva originada por crecimiento neoplásico. En el seguimiento del curso de la quimioterapia para las neoplasias hepáticas, es útil medir la 5'-NT junto con la γGT.

Leucina-aminopeptidasa (LAP)

Esta enzima hidroliza los aminoácidos del extremo amino terminal de los péptidos.

La mayoría de la LAP procede del hígado. Se encuentra unida a la membrana canicular similar a la γGT y la fosfatasa alcalina. Al igual que la fosfatasa alcalina, aumenta en problemas hepáticos pero no se eleva en problemas óseos. Además, se detecta en niveles elevados en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

EJERCICIO

Enzimas no funcionales del plasma

	Enzimas/isozimas
Enzimas que miden síntesis hepática	
Enzimas que miden secreción y excreción de los hepatocitos	
Enzimas de secreción cuyos niveles se encuentran elevados en suero en pancreatitis aguda	
Enzimas que se hallan elevadas en suero en infarto de miocardio	
Enzimas con niveles elevados en suero en enfermedades musculares	

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

CASO CLÍNICO 1

Un varón de 49 años de edad sintió un dolor torácico cuando se encontraba en su oficina. El dolor era de alta intensidad. El varón refirió dolor punzante al respirar, así como sensación de opresión en la pared anterior del tórax. Fue trasladado a un hospital local y, tras una breve exploración, fue internado. Se le realizaron estudios de electrocardiograma y radiografías. Con base en el caso clínico anterior, responda lo siguiente:

PERFIL BIOQUÍMICO

Examen	Resultado	Valores de referencia
Glucosa	108 mg/dL	65 a 110 mg/dL
Creatinina	1.1 mg/dL	0.9 a 1.7 mg/dL
BUN	41 mg/dL	5 a 23 mg/dL
Ácido úrico	6.2 mg/dL	4 a 8.5 mg/dL
Colesterol	281 mg/dL	130 a 200 mg/dL
Calcio	9.7 mg/dL	8.5 a 10.5 mg/dL
Fósforo	2.6 mg/dL	2.5 a 4.8mg/dL
Bilirrubina total	2.8 mg/dL	0.1 a 1.2mg/dL
Bilirrubina directa	0.2 mg/dL	0.1 a 0.3 mg/dL
Albúmina	2.9 g/d-L	3.4 a 5.3 g/dL
Proteínas totales	5.4 g/dL	6.5 a 8.2 g/dL
ALT (TGP)	56 U/L	7 a 27 U/L
AST (TGO)	99 U/L	8 a 30 U/L
DHL	450 U/L	125 a 270 U/L
Fosfatasa alcalina	32 U/L	25 a 90 U/L

1. ¿Los valores plasmáticos altos de la DHL indican lesión en el tejido?

_____

2. ¿Cuántas isoenzimas DHL existen en el suero en condiciones normales?

_____

Descríbalas

_____

3. ¿Qué otras enzimas deberán medirse para que el estudio del paciente esté completo?

_____

4. ¿Cuántas horas después de una lesión del miocardio se elevan las DHL?

_____

5. ¿Cuáles son los requisitos para realizar estudios enzimáticos?

_____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

CASO CLÍNICO 2

Un joven de 14 años de edad fue internado en un hospital a consecuencia de un episodio de náuseas, vómitos y malestar general. Su orina tenía un color oscuro. Tras la exploración se descubrió que presentaba hepatomegalia. Las pruebas de función hepática se muestran a continuación:

PERFIL BIOQUÍMICO

Examen	Resultado	Normal
Glucosa	68 mg/dL	65 a 110 mg/dL
Creatinina	0.6 mg/dL	0.9 a 1.7 mg/dL
BUN	12 mg/dL	5 a 23 mg/dL
Ácido úrico	2.2 mg/dL	4 a 8.5 mg/dL
Colesterol	151 mg/dL	130 a 200 mg/dL
Calcio	105 mg/dL	8.5 a 10.5 mg/dL
Fósforo	3.9 mg/dL	2.5 a 4.8 mg/dL
Bilirrubina total	9.9 mg/dL	0.1 a 1.2 mg/dL
Bilirrubina directa	8.9 mg/dL	0.1 a 0.3 mg/dL
Albúmina	5.2 mg/dL	3.4 a 5.3 g/dL
Proteínas totales	7.8 mg/dL	6.5 a 8.2 g/dL
Relación A/G		
ALT (TGP)	1 500 U/L	7 a 27 U/L
AST (TGO)	450 U/L	8 a 30 U/L
Fosfatasa alcalina	105 U/L	25 a 90 U/L
DHL	400 U/L	55 a 102 U/L

GENERAL DE ORINA

Examen	Resultados	Examen	Resultados
Aspecto	Ligeramente turbio	Hemoglobina	Negativa
Color	Naranja oscuro	Bilirrubina	Positiva ++
Densidad urinaria	1.020	Urobilinógeno	2 unidades Ehrlich
PH	6.0	Eritrocitos	Negativos
Proteínas	Negativo	Leucocitos	5/campo
Glucosa	Negativo	Células epiteliales	Escasas
Cetonas	Negativo	Cristales	Escasos amorfos

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Sobre el caso clínico anterior, responda lo siguiente:

1. ¿Por qué cambió de color la orina del paciente?

2. Cite las pruebas hepáticas que deben practicársele al paciente para apoyar el diagnóstico de hepatitis.

3. Describa el tipo de bilirrubina que se encuentra aumentada.

4. Calcule la relación A/G y la utilidad en las pruebas hepáticas.

5. Refiera cuáles son los datos bioquímicos que sirven para evaluar la función renal del paciente.

Ejercicio de enzimas

Conteste lo siguiente:

1. Cite cinco coenzimas que trasfieren grupos hidrógenos.

2. Escriba el nombre de cinco coenzimas que sean vitaminas.

3. Defina unidad enzimática, según la *International Union of Biochemistry*.

4. Explique en qué consiste el método cinético y el de punto final.

5. Defina cómo puede medirse la actividad catalítica de las isozimas de la creatín-fosfocinasa

6. Escriba la reacción enzimática de la CPK.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

RELACIONE LAS SIGUIENTES COLUMNAS:

1. DHL	( )	( )	Es indicador de carcinoma metastático de próstata.
2. CPK	( )	( )	Sus cifras en suero se elevan en el infarto de miocardio.
3. F. alcalina	( )	( )	Es indicador de función de síntesis de los hepatocitos.
4. F. ácida	( )	( )	Enzima funcional del plasma.
5. Lipasa	( )	( )	Sus cifras se elevan en el plasma en lesión de tejido muscular.
6. Amilasa	( )	( )	Utilizado como indicador de función de secreción y excreción hepática.
7. GGT	( )	( )	Sus cifras en el plasma se elevan en el raquitismo.
8. ALT	( )	( )	Es una enzima que requiere de la vitamina B_6.
9. AST	( )	( )	Enzima que requiere de la niacina.
10. Ceruloplasmina	( )	( )	Sus cifras se encuentran muy elevadas en pancreatitis aguda.
	( )	( )	Enzima que se elimina en forma constante por orina.

Paciente_____ **edad: 22 años** **Sexo: M**

Prueba	Resultados	Referencia
Biometría hemática		
Hemoglobina	120 g/dL	11 a 14 g/dL
Hematocrito	39%	36 ± 5%
VCM	80 fL	77 a 87 fL
HCM	27 pg	25 a 31 pg
CMHG	32%	30 a 33%
RDW (ADE)	11.5%	11 a 14.5%
Leucocitos	13 000 µL	4 000 a 12 000 µL
Neutrófilos seg	2%	2 a 10%
Neutrófilos banda	58%	50 a 70%
Linfocitos	36%	25 a 40%
Ferritina sérica	85 ηg/dL	12 a 140 ηg/dL
Hierro sérico	80 ηg/dL	50 a 120 µg/dL
CTFH	290 µg/dL	250 a 400 µg/dL
Transferrina	210 mg/dL	130 a 275 mg/dL
Proteína C reactiva	Negativa	Negativa

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Perfil bioquímico		Valores de referencia
Glucosa	65 mg/dL	65 a 110 mg/dL
N de la urea	8 mg/dL	6 a 22 mg/dL
Urea	128 mg/dL	20 a 40 mg/dL
Creatinina	0.6 mg/dL	0.6 a 1.6 mg/dL
Colesterol	190 mg/dL	150 a 200 mg/dL
P totales	6.4 g/dL	6 a 8.5 g/dL
Albúmina	4.0 g/dL	3.5 a 5.5 g/dL
B total	0.3 mg/dL	0.2 a 1.0 mg/dL
B. directa	0.1 mg/dL	0.0 a 0.2 mg/dL
ALP (TPG)	14 U/L	7 a 27 U/L
F. alcalina	105 U/L	25 a 90 U/L
DHL	80 U/L	55 a 102 U/L

PERFIL DE LÍPIDOS

Examen	Resultados	Valores de referencia
Asp del suero	Transp	
Lípidos totales	590 mg/dL	400 a 1 000 mg/dL
Colesterol	190 mg/dL	130 a 200 mg/dL
Triglicéridos	150 mg/dL	70 a 170 mg/dL
HDL colesterol	32 mg/dL	30 a 85 mg/dL
LDL colesterol	209 mg/dL	72 a 150 mg/dL
Apoproteína A	136 mg/dL	115 a 208 mg/dL
Apoproteína B	65 mg/dL	60 a 150 mg/dL

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

GENERAL DE ORINA

Examen	Resultados
Aspecto	Ligeramente turbio
Color	Pardo
Densidad urinaria	1.020
pH	6.0
Proteínas	Negativo
Glucosa	Negativa
Cetonas	Negativo
Bilirrubina	Negativa
Hemoglobina	Negativa
Nitritos	Negativo
Urobilinógeno	2 unidades de Ehrlich
Eritrocitos	2/campo
Leucocitos	2/campo
Células epiteliales	Escasas
Cristales	Escasos amorfos

Con los estudios anteriores del paciente, calcule:

1. Relación A/G.
2. Concentración de fosfolípidos.
3. Bilirrubina indirecta.
4. Índices aterogeénicos.
5. Cifras absolutas de neutrófilos.
6. Indicador de inmunidad.
7. Porcentaje de saturación de hierro.

Indique qué datos de los estudios anteriores apoyan para evaluar:

8. La función renal.
9. Deficiencia de hierro.
10. A un paciente con diabetes.
11. Una infección en vías urinarias.
12. Las proteínas de fase aguda negativa.
13. Las proteínas de fase aguda positiva.
14. La función de síntesis hepática.
15. La función de secreción y excreción de los hepatocitos.
16. Lesión musculoesquelética.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19ª edición. Masson. España. 2002. pp. 323, 324, 449.

Bernard Henry, John: *El laboratorio en el diagnóstico clínico.* 20a. edición. España. Editorial Marbán. España. 2007. pp. 287-296-293.

González de Buitrago J.M. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Ed. McGraw-Hill Interamericana de España. Madrid. 1998. pp. 564-567.

Morrison Treseler Kathleen: *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico* Ed. El Manual Moderno. México. 1998. pp. 66-74.

Murray Robert K. (*et al*): *Bioquímica ilustrada Harper.* 28a edición. McGraw-Hill Interamericana. México. 2010. pp. 51-59.

Shils, Maurice E. Olson, James A. Shike, Moshe. Ross A., Catharine: *Nutrición en salud y enfermedad*. 9a edición. Volumen II. McGraw-Hill Interamericana. 2002. pp. A-60, A-61.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. 4ª edición. Ed. Masson. España. 2002. pp. 256, 257.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 11

Minerales y vitaminas

Las vitaminas y los oligoelementos son parte importante de la nutrición y muchos de ellos son esenciales. La deficiencia de micronutrientes causa síntomas clínicos específicos.

MINERALES

Calcio

El calcio es el catión más abundante del cuerpo humano, con un contenido en el adulto entre 1 y 1.5 kg (25 a 37.5 moles). El calcio se encuentra principalmente en el esqueleto, los tejidos blandos y el líquido extracelular.

Mediante un mecanismo homeostático, el calcio utiliza el hueso como reservorio cuando hay deficiencia y como depósito cuando su concentración es la adecuada.

Control hormonal

El control hormonal del calcio circulante incluye al hueso, riñón y tracto gastrointestinal, donde si el calcio plasmático se encuentra disminuido se libera hormona paratifoidea y esto actúa en forma de reabsorción ósea mediada por los osteoclastos y para la reabsorción en riñón e intestino se requiere de la 1.25 $(OH)_2\ D_3$ (figura 11-1).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

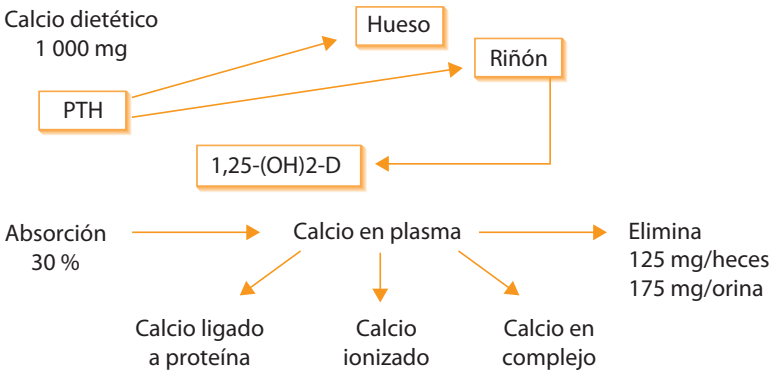


Figura 11-1. Metabolismo del calcio.

Para la absorción de calcio de la dieta se requiere la 1.25 $(OH)_2$ D_3; asimismo, dicha absorción es estimulada por la lactosa. En la absorción del calcio intervienen multitud de alimentos ricos en fibra, fitatos, uratos, oxalatos, lípidos y calcitonina; esta última es una hormona secretada por las células C de la paratiroides, cuya principal función es la reabsorción ósea osteoclástica.

Entre las principales funciones del calcio figuran las siguientes: es parte estructural de huesos y dientes; participa en el proceso de coagulación sanguínea y en la contracción de las células musculares y del miocardio; interviene en la regulación de la excitabililidad nerviosa; brinda estabilidad y permeabilidad a las membranas celulares y participa en las reacciones enzimáticas fungiendo como segundo y tercer mensajero en la modulación de la trasmisión de acciones hormonales en el sitio receptor.

Deficiencia de calcio

El raquitismo en niños y la osteomalacia en adultos son enfermedades del esqueleto caracterizadas por deficiencia en la mineralización del hueso. En niños se observa displasia en las epífisis, retraso en el crecimiento longitudinal y deformaciones del esqueleto. Estos problemas óseos se acompañan de hipocalcemia y se relacionan con deficiencia de vitamina D, pero también puede existir otras causas, como alteraciones primarias o secundarias del metabolismo de la vitamina D o relacionadas con la hormona paratiroidea.

Debe tomarse en cuenta que se puede medir el calcio ionizado, que es la forma activa del calcio y que comprende 50% del total. El resto del calcio se encuentra unido en 40% a proteína (principalmente a la albúmina) y el restante 10% se encuentra en forma de fosfato (citrato).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Métodos de medición

Para la medición de calcio total se utilizan tres métodos: métodos colorimétricos, marcado de calcio fluorescente en unión de EDTA y por espectrofotometría de absorción atómica.

Este último es considerado como el método de referencia. Para valorar la ingesta de calcio debe medirse el calcio iónico en suero y para cuantificar alteraciones o depleción del calcio celular se debe medir calcio total plasmático o la vitamina 1.25 $(OH)_2$ D. Los valores de referencia para calcio total en suero oscilan entre 8.8 y 10.4 mg/dL (2.20 y 2.6 mmol/L) y para calcio libre o ionizado en adultos normales es de 4.4 a 5.2 mg/dL (1.1 a 1.3 mmol/L).

Fósforo

Este elemento se encuentra presente en el organismo humano en forma inorgánica o como fosfato. El contenido total de fósforo del cuerpo en el varón es de alrededor de 600 g (19.4 moles), cuya mayor parte se encuentra en hueso y en menor cantidad en la célula y en el líquido extracelular.

En el esqueleto se encuentra como fosfato inorgánico y en los tejidos blandos como fósforo orgánico. El fósforo del plasma está unido a proteínas, 35% a sodio, calcio y magnesio y el resto (aproximadamente 55%) se encuentra libre.

La absorción de fósforo se realiza principalmente en el yeyuno y tiene una relación lineal con respecto a la ingesta cuando el aporte es de 4 a 30 mg/kg/día.

La mayor parte del fósforo se absorbe en forma pasiva y ésta depende de la ingesta de este mineral; su deficiencia es rara.

Funciones

El fósforo es importante para la formación ósea, el almacenamiento y la liberación de energía; participa en el metabolismo de los carbohidratos, como constituyente de los ácidos nucléicos y de los fosfolípidos y como cofactor en NADP.

Deficiencia

Ésta se presenta en la vitamina D en alcalosis respiratoria, alcoholismo agudo y cetoacidosis diabética.

Método de medición

El principal método para la determinación de fosfato inorgánico en suero es la reacción con molibdeno de amonio para formar un complejo fosfomolibdeno, que puede ser leído mediante un espectrofotómetro de luz UV. La concentración de fosfato en plasma sanguíneo varía de 2.8 a 4.5 mg/dL (0.89 y 1.44 mmol/L).

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Estas cifras aumentan en niños en crecimiento y van de 4.4 a 7.0 mg/dL (1.29 a 2.26 mmol/L).

Magnesio

El organismo humano contiene 22.6 g de este elemento, de los cuales 50% a 60% se concentra en hueso y el resto en los tejidos blandos. El magnesio extracelular representa 1% del magnesio total del organismo. El principal regulador de la homeostasis del magnesio es la hormona paratifoidea, que aumenta la reabsorción tubular de magnesio para regularizarlo en el plasma sanguíneo.

Funciones

En la célula, participa en la estabilización de los ácidos nucleídos, unido al ATP y en la excitabilidad neuromuscular. Interviene en el desarrollo del esqueleto y en el mantenimiento del potencial eléctrico de las membranas de nervio y músculo. Participa como cofactor con todas las enzimas que requieren ATP y en la replicación del DNA y la síntesis de RNA.

Deficiencia

Produce anorexia, vómito, debilidad muscular con espasmos, tetania, letargo y arritmias (cambios en electrocardiograma). Las causas principales son problemas gastrointestinales y pérdidas renales.

Métodos de medición

La determinación de magnesio en suero se puede realizar por medio de diferentes técnicas, siendo la de referencia la de espectrofotometría de absorción atómica, o por técnicas colorimétricas utilizando cromóforos como metiltimol, calmagita, tinción de formazán y magón. La concentración de magnesio total en suero en el adulto normal varía entre 1.7 y 2.2 mg/dL (0.75 y 0.95 mmol/L).

Hierro

El organismo humano adulto contiene entre 2.5 y 4 g de hierro. En la hemoglobina y mioglobina se encuentra 75% de este elemento y en las reservas 0.25%. El hierro es fundamental para la síntesis de hemoglobina, mioglobina y de enzimas de la cadena respiratoria (citocromos b y c), peroxidasas y catalasas.

El hierro hémico se absorbe en el intestino en proporción inversa a las reservas corporales de hierro; en individuos con valores normales de hierro se absorbe 10% de la dieta y en individuos con deficiencia aumenta la absorción. Ésta es más eficaz con la presencia de ascorbatos y citratos y se inhibe por la presencia fitatos y taninos.

El hierro no hémico se solubiliza en el medio ácido del estómago y ácido ascórbico y se reduce de forma férrica (Fe^{3+}) a ferrosa (Fe^{2+}), donde es absorbido por el duodeno y el yeyuno. Una parte del hierro absorbido es almacenado en los

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

entericitos, constituyéndose en parte de la ferritina y la hemosiderina en forma férrica y es transportado después por la sangre desde los entericitos.

El hierro debe unirse a la apotransferrina, que es una β globulina (por emigrar en la región β en una electroforesis de proteínas séricas); esta proteína transporta al hierro por vía sanguínea. La capacidad de fijación del hierro es de 300 µg/dL, del cual sólo un tercio de su capacidad de fijar el hierro se encuentra ocupada.

En las membranas celulares se encuentran receptores específicos para el complejo transferrina-hierro que ayuda a que el hierro sea transportado al interior de la célula, donde es liberado. La transferrina regresa al plasma y repite esta acción por aproximadamente 8 días (vida media de la transferrina).

El hierro unido a la transferrina es llevado a la medula ósea para la síntesis de hemoglobina y a los macrófagos del sistema retículo-endotelial (bazo, hígado) para almacenarse y ser utilizado después en la síntesis de enzimas, o para cubrir las necesidades fisiológicas normales (figura 11-2).

Excreción

Se elimina 1 mg/día de hierro mediante la descamación de la piel, orina y heces. En la pubertad y la menopausia se incrementan las peérdidas debidas a la menstruación entre 0.4 a 0.7 mg/día.

Función

Tiene gran capacidad oxidativa, en la que permite la transferencia de electrones para formar enlaces con otros elementos químicos como oxígeno, nitrógeno y azufre.

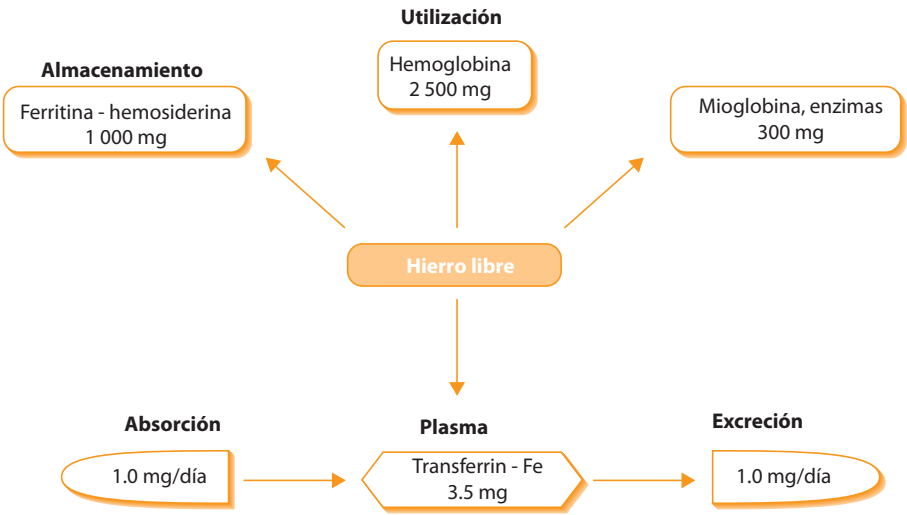


Figura 11-2. Metabolismo del hierro.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

En reacciones bioquímicas el hierro de la hemoglobina participa transportando el oxígeno a los tejidos y en la mioglobina actúa como reserva de oxígeno en el músculo. En los citocromos, el hierro participa en la transferencia de electrones en el metabolismo energético. Además, este elemento es cofactor en las reacciones relacionadas con la replicación celular, el sistema inmune, síntesis de neurotransmisores y del DNA.

Deficiencia

La deficiencia de hierro es la insuficiencia nutricional más común de nuestro país, siendo los más afectados las mujeres y los niños. Esta deficiencia da provoca eritropoyesis defectuosa y anemia hipocrómica y macrocítica; además es causante de reducción de la capacidad intelectual e inmunitaria y aumento de riesgo en parto prematuro.

Toxicidad

Se ha reportado toxicidad (hemocromatosis) en ingesta excesiva de hierro medicinal principalmente en niños. Respecto a las dosis de hierro, se consideran letales 3 gr de sulfato ferroso en niños y de 200 a 250 mg/kg en adultos.Se presentan otros casos de intoxicación debidos a alteraciones genéticas, como la hemocromatosis idiopática, en la que la absorción de hierro se encuentra aumentada.

Para la evaluación de la ingesta y almacén de hierro existen indicadores hematológicos y bioquímicos que se citan en el capítulo 5.

Cobre

El cobre es un nutriente esencial y sus niveles en el organismo se reportan entre 100 y 150 mg.

Funciones

Actúa como cofactor de diversas enzimas, como ceruloplasmina, superóxido dismutasa- oxidasa, citocromo oxidasa y tirosinasa.

Interviene en la formación de melanina y en la síntesis de colágeno y fosfolípidos,en la absorción y utilización del hierro, así como en la síntesis de hemoglobina.

La deficiencia de cobre puede deberse a carencia dietética, la cual ocurre raramente, o en pérdida durante la diálisis renal. Esta deficiencia puede producir anemia, la cual se presenta como anemia microcítica e tipocromía, que es resistente a la terapéutica con hierro. Además, puede afectar el pelo y la piel.

Métodos de medición

Las pruebas de laboratorio para la evaluación del estado del cobre se realizan en plasma y ceruloplasmina en suero. La concentración sérica de cobre es de utilidad como indicador de deficiencia a largo plazo y se cuantifica por espectrofotometría de absorción de masas.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Las cifras de referencia para el cobre plasmático en adultos son de 70 a 140 µg/dL (11 a 22 µmol/L) para varones y 80 a 155 µg/dL (13 a 24 µmol/L) para mujeres.

La ceruloplasmina sérica puede servir en la valoración del estado del cobre, la cual se mide por métodos inmunoquímicos como la nefelometría. Otras mediciones que actúan como indicadores de cobre son las que se obtienen con las enzimas que contienen cobre, como la superóxido-dismutasa eritrocítica y la oxidasa del citocromo C de las plaquetas o leucocitos, las cuales son de utilidad para medir depósitos metabólicos activos. Los valores de referencia van de 25 a 43 mg/dL y varían según el método.

Selenio

El selenio está muy relacionado con la vitamina E. Es consumido en unión con aminoácidos y es absorbido en 50%. La mayor parte del selenio en los tejidos está presente en dos formas: como selenocisteína y como selenometionina; la primera es la forma biológicamente activa del selenio. Las diferentes formas de selenio dentro de la célula son convertidas en selenuro, donde éste actúa en la síntesis de selenofosfato, el cual participa en la síntesis de seleno-tRNAs y selenoproteínas, siendo esta la forma en que se regula el metabolismo del selenio.

Función

Todas las funciones del selenio reaccionan cuando el organismo se defiende frente al estrés oxidativo. Es constituyente de más de 100 proteínas, como la glutatión-peroxidasa eritrocitaria (enzima antioxidante), la yodotironina-5-desyodinasa tipos I, II y III y las proteínas musculares selenoproteína P y selenoproteína W.

Otras funciones del selenio son su participación en la síntesis de ubiquinona y en el crecimiento de los fibroblastos humanos.

Deficiencia

Ésta es rara, ya que la seleniometionina puede cubrir las necesidades durante varios meses. Se asocia a deficiencia de vitamina E y de yodo.

Toxicidad

Puede causar anormalidades del sistema nervioso, caída del cabello e indigestión; esta toxicidad se presenta en ingestas superiores a 200 µg/día.

Métodos de medición

El selenio en sangre y orina se cuantifica por espectrometría de absorción atómica; otro método para medición en sangre es mediante métodos fluorimétricos.

El índice funcional para el selenio es medir la actividad enzimática de la glutatión- peroxidasa en eritrocitos. Las concentraciones de selenio en suero son de aproximadamente 0.22 µg/mL.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cinc

El cinc se encuentra en diferentes tejidos, como testículos y piel, pero el contenido de cinc en los eritrocitos es alrededor de 10 veces el del plasma, ya que se encuentra en la enzima anhidrasa carbónica.

Función

Este elemento es necesario para la integridad de las histonas, proteínas íntimamente involucradas con el DNA. Además de ser un componente de las polimerasas del DNA y del RNA, así como de enzimas citosólicas, interviene en la síntesis de proteína. Desempeña un papel central en el crecimiento celular y es constituyente de metaloenzimas tales como anhidrasa carbónica, alcohol deshidrogenasa, carbopeptidasa, fosfatasa alcalina, timidina quinasa, RNA, DNA y polimerasas. Tiene un papel preponderante en el metabolismo del ácido nucleico.

Deficiencia

El déficit de cinc en niños no es muy frecuente y se caracteriza por retraso en el crecimiento, lesiones cutáneas y alteraciones del desarrollo sexual. Se presentan pérdidas en quemaduras graves. Los niveles de cinc plasmático disminuyen durante el embarazo y por el uso de anticonceptivos orales, defectos en la absorción o por problemas catabólicos como quemaduras, traumatismos, cirugías, lesión renal o durante la diálisis.

Métodos de medición

Las técnicas más utilizadas para determinar la concentración de cinc en plasma o suero son por espectrofotometría de absorción atómica y por espectroscopia de emisión. Se ha probado recientemente que los niveles eritrociticos de metalotioneína sirven para conocer el estado del cinc en el organismo. Debe tomarse en cuenta su relación con la albúmina, ya que en condiciones de hipoalbuminemia disminuye el cinc circulante. Los valores de cinc plasmático varían entre 70 y 120 mg/dL, de los cuales 70% se encuentra unido a albúmina y el resto a α macroglobulina.

VITAMINAS

Vitaminas liposolubles

Las vitaminas son moléculas orgánicas presentes en los alimentos naturales, que no se pueden ser sintetizadas por el ser humano en las cantidades requeridas; las vitaminas hidrosolubles (complejo B y vitamina C) actúan como coenzimas de reacciones específicas del metabolismo celular.

Las vitaminas liposolubles (A, D, K, E) son compuestos hidrófobos apolares y su absorción en el organismo se desarrolla de la misma manera que la de los

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

lípidos. Se transportan de igual manera en la sangre que los lípidos y tienen muy diversas funciones, como las vitaminas A y D, que actúan como hormonas y la vitamina K, que desarrolla un importante papel en la síntesis de las proteínas de la coagulación.

Mediciones bioquímicas

Los indicadores bioquímicos que reflejan el estado vitamínico presentan anormalidades antes de que aparezcan alteraciones clínicas evidentes y detectan deficiencias en la fase subclínica. Estos indicadores pueden obtenerse midiéndola medir los cofactores o precursores activos en los líquidos biológicos o en células sanguíneas (metabolitos urinarios de las vitaminas), la excreción urinaria de la vitamina o de sus metabolitos después de una sobrecarga con dicha vitamina, o aldeterminar la función bioquímica que requiere la acción de la vitamina.

Como en todas las mediciones bioquímicas, hay que considerar diferentes factores que alteran los valores de referencia, tales como edad, medicamentos, absorción y patologías.

Vitamina A

Con el nombre de vitamina A se designan tres compuestos (retinal, retinol y ácido retinoico) en los tejidos animales, siendo su provitamina el β-caroteno, que se encuentra en los vegetales como pigmentos carotenoides. La provitamina se convierte en todo–*trans* retinal por acción de la dioxigenasa β-caroteno en el intestino delgado; en los entericitos se produce retinol y ácido retinoico, que después es transportado al hígado, donde se almacena como palmitato de retinol.

El transporte desde el hígado hacia los tejidos periféricos es un proceso regulado, donde el retinol se combina primero con una proteína de transporte específica: la proteína fijadora de retinol (RBP, por sus siglas en inglés). Esta proteína requiere cinc y cantidades adecuadas de proteína de la dieta.

El β-caroteno tiene un papel antioxidante y es el carotenoide más activo encontrado en vegetales; su fórmula estructural se muestra en la figura 11-3.

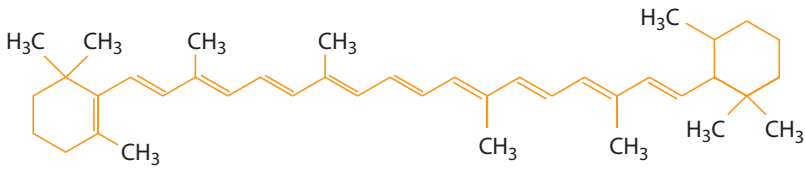


Figura 11-3. Fórmula estructural del β-caroteno.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

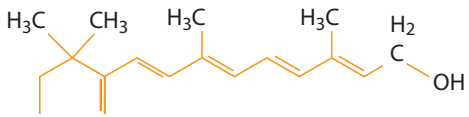


Figura 11-4. Fórmula estructural del retinol (vitamina A_1).

El retinol (vitamina A_1) es un alcohol primario que existe en forma esterificada en los tejidos de animales y pescados de agua salada, principalmente en el hígado. En seguida se ilustra su fórmula estructural (figura 11-4).

Función

Las funciones de la vitamina A son el mantenimiento de la diferenciación celular, la producción de moco, la modulación del crecimiento de los huesos durante la remodelación ósea y tiene gran importancia en el proceso de la visión debido a que el pigmento visual denominado rodopsina se encuentra en los bastones de la retina, donde se forma por la unión de 11-*cis* retinal a la apoproteína opsina.

La deficiencia de vitamina A puede manifestarse en visión nocturna defectuosa ("ceguera nocturna") o hiperqueratosis de mucosas. Los signos oculares incluyen xerosis conjuntival, luego corneal y queratomalacia.

La desnutrición proteico-calórica severa, las enfermedades hepáticas y la mala absorción de grasas se asocian con déficit de vitamina A.

La deficiencia de esta vitamina se manifiesta por piel muy seca, de color gris cenizo, debido a la escasa actividad de las glándulas sudoríparas y sebáceas. Ocasionalmente puede presentarse hiperqueratosis folicular (*phrynoderma*) similar al déficit de vitamina C.

Toxicidad

La administración excesiva de vitamina A es toóxica, lo cual no ocurre por ingesta de alimentos sino por el uso de suplementos de vitamina A pura. La toxicidad puede causar dolor óseo, pérdida de cabello, dermatitis, hepatoesplenomegalia, visión doble, cefalea y diarrea.

Métodos de medición

La determinación en suero de las diversas formas de vitamina A (retinol, esteres de retinilo) puede realizarse por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Las concentraciones de esteres de retinilo en suero valoran mejor los problemas de toxicidad. La concentración plasmática normal de vitamina A es de 40 a 80 µg/dL y de caroteno entre 25 a 50 µg/dL.

Vitamina D

Nombre aplicado a dos sustancias liposolubles relacionadas: colecalciferol y ergocalciferol. La D_3, o colecalciferol, se sintetiza de manera endógena en la

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

epidermis por la acción de la radiación solar (entre 290 y 315 nm) sobre un precursor: el 7-dehidrocolesterol (provitamina D_3), que proviene del colesterol y la vitamina D_2 (o ergocalciferol), cuyo origen es vegetal.

La vitamina D se forma en la piel por la acción de los rayos ultravioleta, en cantidad suficiente para cubrir las requerimientos diarios. La vitamina 1.25-dihidroxicolecalciferol (o D_3) actúa como hormona, junto con la hormona paratiroidea y la calcitonina, en la absorción de calcio y fósforo y participa también en la regulación de las cifras plasmáticas de Ca^{2+} (ionizado).

La radiación ultravioleta de varios esteroles de origen animal y vegetal da por resultado su conversión a compuestos con actividad de vitamina D. El desdoblamiento del enlace entre los carbonos C9 y C10 es la alteración esencial producida por el proceso fotoquímico, pero no todos los esteroles que sufren este desdoblamiento poseen capacidad para combatir el raquitismo.

El ergosterol, que se encuentra en plantas, es la provitamina para la vitamina D_2 (ergocalciferol). El ergosterol y la vitamina D_2 difieren del 7-deshidrocolesterol y de la vitamina D_3, respectivamente, sólo porque cada uno posee un doble enlace entre C22 y C23 y un grupo metil en C24. La vitamina D_2 es el constitutivo activo en diversas preparaciones

La vitamina D proveniente tanto de la dieta como sintetizada de manera intrínseca requiere activación para hacerse biológicamente activa. El metabolito activo primario de la vitamina es el calcitriol (1.25-dihidroxivitamina D_3), producto de dos hidroxilaciones sucesivas de la vitamina D (figura 11-5).

El paso inicial en la activación de la vitamina D ocurre en el hígado y el producto es el 25-hidroxicolecalciferol (25-OH D, o calcifediol). El sistema de enzimas hepáticas encargado de la 25-hidroxilación de la vitamina D se relaciona con las fracciones microsómica y mitocondrial de homogeneizados y requiere la forma reducida del fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH), además de oxígeno molecular.

Después de la producción en hígado, el 25-hidroxicolecalciferol entra al torrente sanguíneo, donde es transportado por la proteína fijadora de vita-

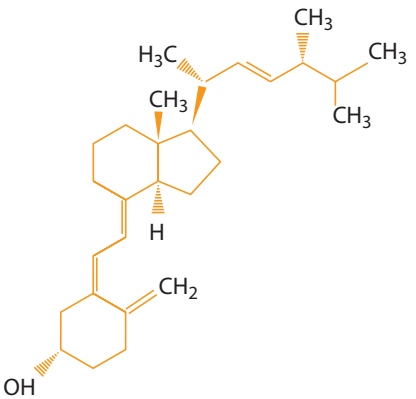


Figura 11-5. Fórmula estructural de la vitamina D.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

mina D (DBP), una globulina específica sintetizada en el hígado. La activación final hacia calcitriol ocurre primero en los riñones, pero también tiene lugar en la placenta. Así, los riñones constituyen la fuente predominante de calcitriol en la circulación.

El sistema enzimático encargado de la 1-hidroxilación del 25-hidroxicolecalciferol se relaciona con mitocondrias en los túbulos proximales. Es una oxidasa con función mixta y requiere oxígeno molecular y NADPH como cofactores. La citocromo P450, una flavoproteína, así como la ferredoxina, son componentes del complejo de enzimas.

La síntesis renal depende de diferentes factores. La hormona paratiroidea es, junto con la calcitonina, la que más interviene en la síntesis de 1.25-$(OH)_2$ D. Otro factor es la hipocalcemia.

Función

La vitamina D se caracteriza por ser un regulador positivo de la homeostasis del Ca^{2+}. La vitamina afecta el metabolismo del fosfato de manera paralela a la del Ca^{2+}.

Deficiencia

Su carencia produce raquitismo, osteoporosis y osteomalacia, con descalcificación de huesos. Se manifiesta como falta de crecimiento en los niños y por deformidades del esqueleto; en adultos puede producir deficiencias en estados fisiológicos como el embarazo y la lactancia, con síntomas de lumbalgia, espasmo y debilidad muscular y deformaciones de la columna vertebral y la pelvis.

Toxicidad

El exceso de vitamina D provoca aumento de la absorción de calcio y reabsorción ósea, que causa hipercalcemia e hipercalcuria en forma de depósitos metastáticos de calcio.

Métodos de medición

La 25(OH) D y el 1.25$(OH)_2$ D son los únicos metabolitos que han demostrado valores únicos. La 25(OH) D es uno de los mejores indicadores para conocer el estado nutricional y de intoxicación de la vitamina D, ya que tiene una vida media más larga (de dos a tres semanas); además, tiene menos fluctuación en la ingesta. Esta medición se puede realizar por cromatografía liquida de alta precisión (HPLC) y radioinmunoensayo.

Otro indicador para la síntesis de hueso es la fosfatasa alcalina (enzima de la membrana de los osteoblastos), cuyas cifras son altas en plasma en patologías como raquitismo, osteoporosis y osteomalacia. Por su especificidad, la técnica de elección para medir la actividad de la fosfatasa alcalina es la de inmunoensayo. La concentración sérica de 25(OH) D es de aproximadamente 10 a 50 ng/mL (25 a 125 nmol/L). Esta medición depende de la exposición a la luz solar y refleja el aporte dietético; la 1.25diOH-D es de 0.04 a 1.14 nmol/L, representa la forma activa, es regulada por factores metabólicos y refleja la función renal.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Vitamina E

Existen dos clases de compuestos que constituyen el grupo de la vitamina E: los tocoferoles y tocotrienoles. En la actualidad se conocen ocho tocoferoles con actividad de vitamina E que ocurren de modo natural. Se considera que el α tocoferol (5,7,8-trimetil-tocol) es el tocoferol de mayor importancia, puesto que constituye alrededor de 90% de los tocoferoles en tejidos de animales (figura 11-6).

Función

La vitamina E es un antioxidante biológico que protege a los lípidos tisulares del ataque de moléculas peroxidantes como peróxidos, superóxidos y radicales libres de oxígeno.

La carencia de vitamina E se manifiesta sólo cuando hay absorción intestinal deficiente de las grasas, ya que su digestión y absorción es similar a los lípidos. Entre sus funciones destaca la de proteger las membranas celulares mediante su acción antioxidante y prevenir la hemólisis.

Método de medición

Las concentraciones plasmáticas de vitamina E varían mucho entre individuos normales y fluctúan con las concentraciones de lípidos. Así, la medición de la proporción entre vitamina E y los lípidos totales en el plasma se ha utilizado para valorar la vitamina E. El déficit de esta vitamina puede redeterminarse mediante la estabilidad de los eritrocitos frente a oxidantes, o por la cuantificación de vitamina E en suero o plasma con la técnica de cromatografía líquida de alta precisión (HPLC). En general, las concentraciones plasmáticas de tocoferol parecen relacionarse de modo más estrecho con la ingestión en la dieta y con efectos de la absorción intestinal de lípidos, que con la presencia de otros problemas metabólicos. Los valores de referencia de vitamina E en plasma son de 0.7 a 1.6 mg/dL (19 a 35 μ mol/L; valores menores a 0.5 mg/dL son indicativos de déficit de esta vitamina.

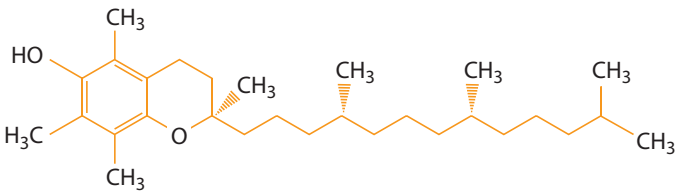


Figura 11-6. Estructural de la vitamina E.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Vitamina K

La actividad de la vitamina K se relaciona con al menos dos sustancias naturales: vitamina K_1 y K_2. La primera, o fitonadiona (filoquinona), es la 2-metil-3-fitil-1,4-naftoquinona; se encuentra en plantas y es la única vitamina K natural disponible para uso terapéutico.

La vitamina K_2 representa una serie de compuestos llamadas menaquinonas. En el intestino pueden encontrarse grandes cantidades de vitamina K contenidas en las heces de seres humanos que son generadas por bacterias en el tubo digestivo.

Función

La vitamina K es esencial en la dieta para la biosíntesis normal de varias proteínas, como los factores II, VII, IX y X que participan en la coagulación. Estas proteínas se sintetizan en el hígado de manera inactiva y se activan por carboxilación de los residuos específicos de ácido glutámico mediante una enzima dependiente de la vitamina K.

En lactantes bastan 10 mg/kg de peso corporal de fitonadiona para prevenir hipoprotrombinemia. En el adulto las necesidades se satisfacen mediante la dieta promedio; además, la vitamina sintetizada por las bacterias intestinales también está disponible para el organismo (figura 11-7).

Deficiencia

La deficiencia de vitamina K se manifiesta por una prolongación del tiempo de protrombina, equimosis, epitaxis, hematuria y hemorragias gastrointestinales.

Métodos de medición

La concentración de vitamina K puede determinarse por espectrometría y en forma indirecta el tiempo de protrombina; si éste se prolonga más de 30 segundos (lo normal es menos de 13 seg), debe repetirse para su confirmación con

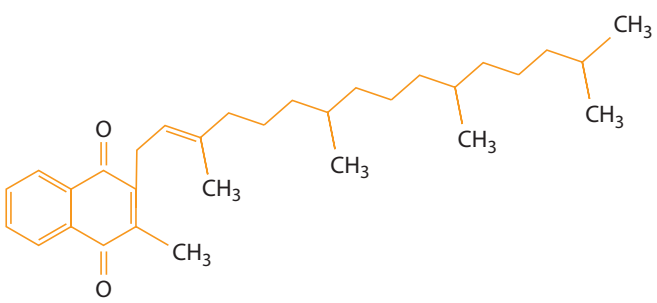


Figura 11-7. Fórmula estructural de la vitamina K.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

administración de un suplemento de vitamina K. Si el tiempo de protrombina se corrige, esto confirmará deficiencia de vitamina K.

VITAMINAS HIDROSOLUBLES

Vitamina C (ácido L-ascórbico)

El ácido L- es la forma enol de la cetol-1-gulorano–actona, como se ilustra en la siguiente estructura (figura 11-8).

El ácido ascórbico se absorbe en yeyuno y se le puede encontrar en todas las células y en el plasma. Se elimina por orina cuando su concentración excede el umbral plasmático renal de 1.5 mg/dL.

Función

La vitamina C promueve la hidroxilación de la prolina y la lisina en el protocolágeno para la síntesis del colágeno. Como agente reductor, esta vitamina favorece la absorción del hierro, al reducirlo a su estado ferroso en el estómago.

Actúa como antioxidante en la conversión de tirosina a catecolaminas mediante la dopamina β hidroxilasa. Asimismo, favorece la conversión de folato en tetrahidrofolato y la formación de derivados poliglutamato del tetrahidrofolato.

Deficiencia

La carencia de vitamina C puede ser causada durante la vida intrauterina o la lactancia, por alcoholismo crónico, disminución en la absorción intestinal, o por aumento de su requerimiento. La deficiencia severa de vitamina C da lugar a la aparición de escorbuto en adultos y de la enfermedad de Moelle-Barlow o escorbuto en niños. Esta enfermedad se manifiesta en un conjunto de procesos que provocan deficiencia en la síntesis de colágeno, que es causante de derrames sanguíneos en la piel, membranas mucosas y a nivel músculo-esquelético.

Método de medición

La confirmación del diagnóstico puede realizarse mediante determinación de la vitamina C en plasma por espectrofotometría, mediante reacción colorimétrica

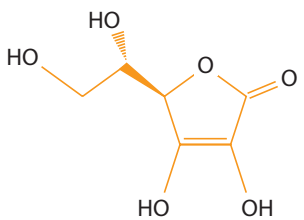


Figura 11-8. Fórmula estructural de la vitamina C.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

por la técnica de cromatografía de alta resolución (HPLC). Además puede medirse el contenido de ascorbato en los leucocitos.

Los valores normales de vitamina C en plasma oscilan entre 0.4 y 1.5 mg/dL (34 a 114 µmol/L), considerándose deficiencia en cifras menores a 0.2 mg/dL.

Vitamina B_1 (tiamina)

Esta molécula está compuesta por un anillo de pirimidina y un anillo tizólico, ambos unidos por un puente metileno (figura 11-9).

La absorción de la tiamina ocurre en el intestino delgado por un proceso de transporte activo en ingesta de 5 mg/día; con una ingesta mayor la difusión pasiva adquiere importancia.

La tiamina se fosforila en la mucosa yeyunal formando pirofosfato de tiamina, después de lo cual es transportada al hígado a través de la vena porta. La tiamina libre se halla en el plasma y en la célula se encuentra preferentemente como coenzima pirofosfato de tiamina (TPP).

Función

La tiamina es absorbida por el intestino delgado mediante un proceso de transporte activo cuya forma activa es el pirofosfato de tiamina, sustancia indispensable para la descarboxilación del piruvato, para reacciones catalizadas por transferasas y en el metabolismo de los carbohidratos. También interviene en el metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada.

La TPP es una coenzima transportadora de un grupo aldehído tomado de un sustrato inicial cetónico, siendo fundamental la TPP en el mecanismo de la descarboxilación oxidativa de α-cetoácidos (en especial piruvato); también interviene en la descarboxilación del ácido α cetoglutárico para convertirse en succinil CoA.

Deficiencia

El inicio de la deficiencia de tiamina reporta pérdida de apetito, estreñimiento y náuseas y su progreso da pie a la aparición de depresión, neuropatía periférica e inestabilidad, que indican deterioro de la función de las células nerviosas que puede conducir a pérdida de memoria y ataxia. Estos cuadros clínicos observados en alcohólicos se denomina psicosis de Wernicke-Korsakoff.

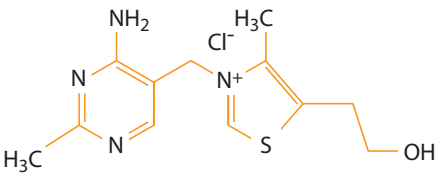


Figura 11-9. Fórmula estructural de la tiamina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

en

La deficiencia severa de tiamina produce beriberi, ya sea seco (sin retención de líquidos) o húmedo (relacionado con insuficiencia cardiaca y edema).

Métodos de medición

La medición de la concentración de tiamina en suero u orina se mide el método fluorimétrico del tiocromo o por cromatografía de alta resolución (HPLC). Otra método es la prueba funcional de la actividad transcetolasa en sangre total o en eritrocitos. Los valores de referencia en suero son de 5.3 a 7.9 µg/dL y en orina de 100 a 200 µg/24 h.

Niacina

El término niacina es genérico e incluye al ácido nicotínico y a la nicotinamida. La nicotinamida es la amida del ácido y uno de los constituyentes de las coenzimas NAD, NADP (figura 11-10). La niacina puede ser sintetizada a partir del triptófano; para producir 1 mg de niacina se requieren 60 mg de triptófano y esto sólo es posible hasta que se han cubierto las necesidades de triptófano. La niacina es fácilmente absorbida por el intestino delgado.

Función

La función de la forma activa NAD^+ es actuar como coenzima de diferentes enzimas, como la enzima alcohol deshidrogenasa, lactato-deshidrogenasa y gliceraldheído 3- fosfato-deshidrogenasa. La molécula de NADP actúa en el metabolismo de los lípidos.

Deficiencia

La carencia de niacina es uno de los factores para la aparición de pelagra, que se acompaña de diarrea, dermatitis y demencia.

Métodos de medición

Para determinar el estado nutricional de la niacina deben medirse los metabolitos de la niacina en la orina con el N metilnicotinamida y la piridona, obteniéndose un cociente entre la piridona y la metilnicotinamida eliminadas por orina. Los valores aceptados como normales oscilan entre 1.3 y 4.

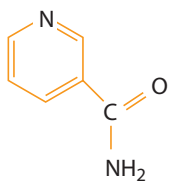


Figura 11-10. Fórmula estructural de la nicotinamida.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Vitamina B_2 (riboflavina)

La riboflavina o vitamina B_2 contiene isoalaxozina y D ribosa. Actúa como coenzima flavínica como el mononucleótido de flavina (FMN) y el dinucleótido de flavina (FAD) (figura 11-11).

Se absorbe en la parte alta del intestino delgado por un proceso activo dependiente de sodio y que puede alterarse por la ingestión de alcohol; es transportada unida de manera débil a la albúmina y de forma fuerte a las globulinas (específicamente a los anticuerpos IgM, IgG e IgA); es excretada por medio de la orina. La riboflavina no es almacenada, por lo que la excreción urinaria refleja la ingesta de la dieta.

Función

La riboflavina participa en las reacciones de óxidorreducción importantes para el funcionamiento de las células aeróbicas, en las que participa como coenzima FAD y FMN.

Deficiencia

La deficiencia de riboflavina se manifiesta con debilidad, fatiga, ardor bucal y conjuntival y posteriormente queilosis y queilitis, hipertrofia de las papilas gustativas y anemia. La deficiencia de vitamina B_2 ocurre cuando la ingesta es inferior a 0.6 mg/día y se manifiesta por glositis, dermatitis seborreica, queilosis y anemia. Algunas de estas deficiencias son secundarias, como por ingesta de alcohol y algunos fármacos como probenecid y clorpromacina, así como fenotiacinas.

Método de medición

La concentración de riboflavina en suero y orina puede determinarse por cromatografía como HPLC. Esta medición no refleja el estado funcional de la vitamina como la estimulación de la actividad de la enzima glutatión reductasa eritrocítica

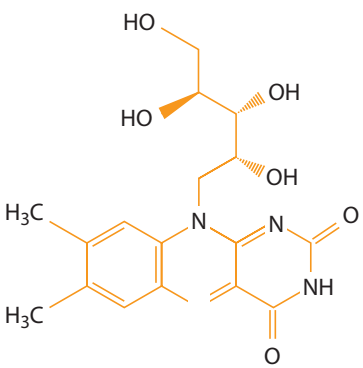


Figura 11-11. Fórmula estructural de la riboflavina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

por la coenzima FAD; esta actividad se determina por espectrofotometría antes y después de agregar FAD.

Vitamina B_6 (piridoxina)

La vitamina B_6 refiere tres compuestos: la piridoxina, la piridoxal y la piridoxoamina, así como sus fosfatos 5'. La piridoxina es la forma principal y su forma activa es el fosfato de piridoxal, en el que participa como cofactor en reacciones de transaminación necesarias para el metabolismo de los aminoácidos; también interviene en el metabolismo de los hidratos (figura 11-12).

Deficiencia

La deficiencia de vitamina B_6 se presenta en ingestiones menores de 1.25 mg/día y se manifiesta por fatiga, depresión leve que progresa a neuropatía periférica, cefalea, anemia microcítica e hipocrómica, linfopenia, dermatitis seborreica y pérdida de peso.

Método de medición

Para evaluar su deficiencia se determina la concentración sanguínea de piridoxal fosfato.

También puede medirse por medio de la excreción urinaria del ácido 4-piridóxico (metabolito principal de la vitamina B_6), por técnicas de fluorimetría y cromatografía de alta resolución (HPLC), o por las pruebas funcionales que miden la actividad de la enzima aspartato transaminasa eritrocítica basal y la estimulación con piridoxal fosfato *in vitro*.

Los valores normales de piridoxina en plasma son de 25 a 80 ng/mL (122 a 389 nmol/L).

Ácido fólico

Molécula que posee un anillo de pteridina, ácido p-aminobenzoico y ácido glutámico. La forma activa del ácido fólico es el ácido tetrahidrofólico (FH_4), donde actúa como coenzima (figura 11-13).

Las reservas de folatos en el organismo es muy pequeña (entre 10 y 12 mg), por lo que fácilmente se produce deficiencia al incrementarse las necesidades corporales o cuando no se ingiere.

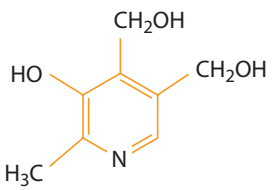


Figura 11-12. Fórmula estructural de la piridoxina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

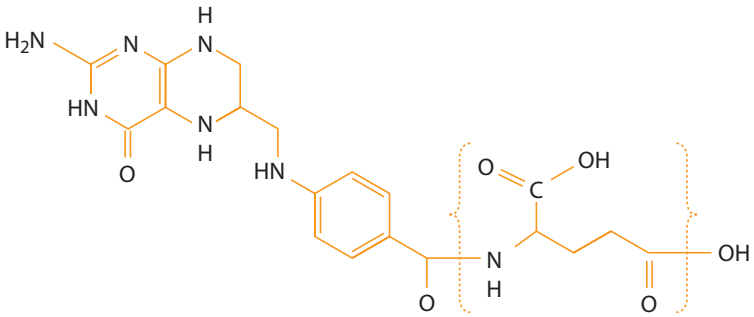


Figura 11-13. Fórmula estructural del tetrahidrofolato.

Se puede ingerir en forma de ácido pteroilpoliglutámico, que se hidroliza en el estomago a ácido pteroilglutámico y se absorbe en el yeyuno proximal; en las células intestinales se convierte en metiltetrahidrofolato y en esta forma es transportado por la vía porta unido a albúmina al hígado. Las formas principales son el tetrahidrofolato, el 5' metiltetrahidrofolato y el N^{10}-formiltetrahidrofolato-poliglutamato.

Funciones

Participa en forma importante en la síntesis de purinas y pirimidinas, moléculas básicas para la síntesis de ácidos nucleidos. La 5'-metiltetrahidrofolato sirve de grupo prostético en enzimas que participan en la transferencia de metilos.

Deficiencia

La causa más frecuente de deficiencia se debe a una alimentación escasa, o por aumento de las necesidades del organismo, como en embarazo, lactancia y enfermedades con incremento en la eritropoyesis. En este episodio el paciente presenta disnea, fatiga, diarrea, palpitaciones y ulceraciones en lengua.

En la deficiencia de folatos, las manifestaciones hematológicas se presentan como anemia megaloblástica, siendo ésta una de las deficiencias más frecuentes. Dichas manifestaciones se asocian a deficiencia de vitamina B_{12}, que produce eritrocitos macrocíticos con membranas frágiles, así como neutrófilos hipersegmentadosy tendencia a hemolizar.

Durante el embarazo y debido a los requerimientos del feto, la concentración de folatos disminuye gradualmente y su deficiencia se ha relacionado con el riesgo de dar a luz niños con defectos del tubo neural.

Métodos de medición

Cuando en sangre periférica y medula ósea se presentan eritrocitos con características de anemia megaloblástica, se debe de medir cobalamina y folatos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Se utilizan diferentes métodos para medir folatos séricos y eritrociticos y pueden realizarse por el ensayo microbiológico con *Lactobacillus casei* o por radioisótopos.

En las anemias megaloblásticas se encuentran niveles de folatos séricos menores de 3 µg/L. El folato eritrocitario representa la reserva corporal de ácido fólico.

Una prueba complementaria es el ensayo de la homocisteína plasmática, que se encuentra aumentada en la deficiencia de cobalamina y 75% de deficiencia de folatos.

Los valores de referencia de folato sérico comprenden entre 5 y 21 µg/lL (11 a 48 nmol/L) y los niveles de ácido fólico en eritrocitos en adultos son de 150 a 600 µg/L (340 a 1 360 nmol).

El folato eritrocitario es la mejor prueba para medir las reservas corporales de ácido fólico y se encuentra disminuido en la anemia megaloblástica.

Vitamina B_{12} (cianocobalamina)

La vitamina B_{12} (cianocobalamina) es una molécula formada por una estructura en anillo alrededor de un átomo de cobalto (núcleo corrin), un grupo nucleótido con una base 5,6 dimetilbencimidazol y una ribosa fosforilada esterificada con 1-amina, 2-propanol (figura 11-14).

Para su absorción se requiere el factor gástrico intrínseco (FI), una glucoproteína producida por las células parietales del estómago. Una vez absorbido 90% de la vitamina, ésta es transportada por un grupo de proteínas denominadas trascobalaminas II y entregada en el hígado a células hematopoyéticas y otras células en división. El resto se une a la haptocorrina, que evita la pérdida desde el plasma.

Función

Actúa en la reacción catalizada por la homocisteína metiltransferasa, que es una enzima dependiente de la vitamina B_{12}. Actúa como intermediario en la transferencia de un grupo metilo desde el 5'metiltetrahidrofolato a la homocisteína para la formación de metionina. La función de esta enzima es básica y establece un vínculo entre las acciones del folato y la vitamina B_{12}. Cuando hay deficiencia de esta vitamina, la enzima metionina sintasa se altera y causa la acumulación de N^5 metil-tetrahidrofolato, "la trampa de folatos", por lo que ocurre una deficiencia de folatos secundaria a la deficiencia de B_{12}. Esto provoca que no se sinteticen los tetrahidrofolatos esenciales para la síntesis de DNA, reacción presentada en la figura 11-15.

Otra de las funciones es que la desoxiadenosilcobalamina actúa como coenzima de la metilmalonil CoA mutasa; esta reacción es importante en el metabolismo de los ácidos grasos y los aminoácidos alifáticos y causa la acumulación de lípidos anormales que interfieren con la síntesis de esfingolípidos y fosfolípidos, lo que da por resultado la mieloneuropatía típica de la deficiencia de B_{12}.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

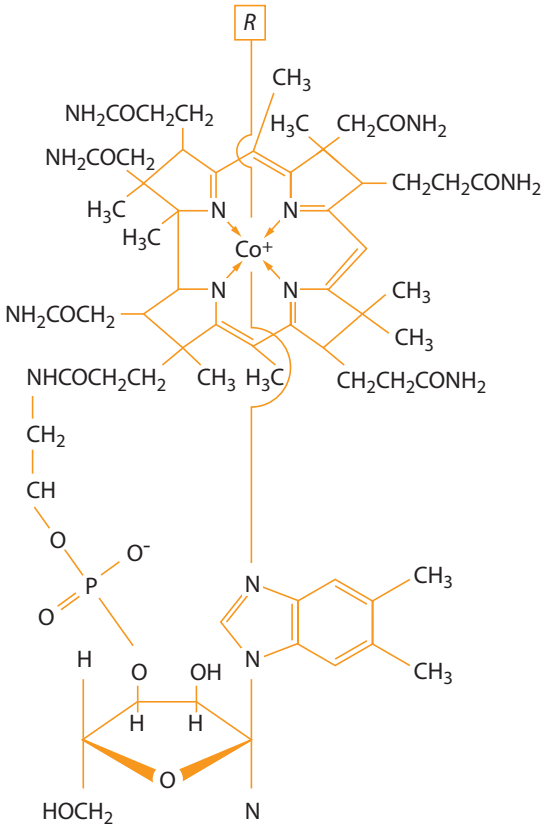


Figura 11-14. Fórmula estructural de la vitamina B_{12}.

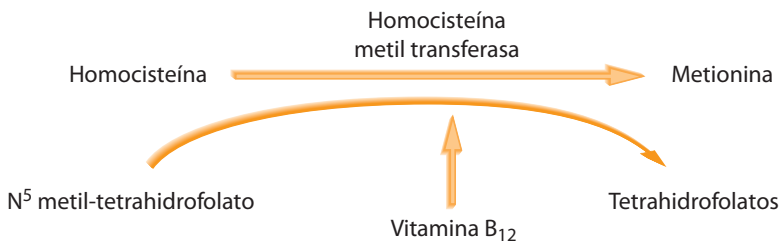


Figura 11-15. Trampa de tetrahidrofolatos.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cuadro 11-1. Indicadores de deficiencia de minerales

Mineral	Indicadores de deficiencia
Fósforo	Medición de fósforo inorgánico sérico.
Cobre	Ceruloplasmina sérica.
Cinc	Niveles eritrocíticos de metalotioneína.
Hierro	Hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM.
Calcio	$1.25(OH)_2$ D_3 en suero.
Selenio	Actividad enzimática de la glutatión peroxidasa en eritrocitos.

Deficiencia

La deficiencia de vitamina B_{12} puede deberse a una dieta insuficiente, por la falta del factor intrínseco (FI) o por absorción deficiente.

La deficiencia de vitamina B_{12} causa problemas hematológicos y produce anemia perniciosa, cuyas manifestaciones clínicas más importantes son la anemia megaloblástica y problemas neurológicos. La anemia se desarrolla debido a la carencia de cobalamina, donde se retarda la síntesis de DNA, por lo que la medula ósea se hace megaloblástica debido al desequilibrio en el crecimiento. Los eritrocitos son macrocíticos y puede presentarse leucopenia y trombocitopenia; los neutrófilos son multilobulados.

Cuadro 11-2. Indicadores de ingesta reducida

Vitamina	Indicadores de ingesta reducida
Tiamina	Actividad transcetolasa en sangre total o en eritrocitos.
Riboflavina	Estimulación de la actividad de la enzima glutatión reductasa eritrocítica, o actividad catalítica de aspartato aminotransferasa en eritrocito.
Piridoxina	Concentración de 5'fosfato de piridoxal en plasma.
Nicotinamida	N-metilnicotinamida y 2-piridona urinaria.
Ácido fólico	Folato plasmático y folato eritrocitario.
Vitamina A	Concentración de retinol en el plasma.
Vitamina B_{12}	Vitamina B_{12} en plasma y medición en orina de metil malónico.
Vitamina C	Ácido ascórbico plasmático y eritrocítico.
Vitamina D	Fosfatasa alcalina y la 25(OH) D en suero.
Vitamina E	Hemólisis de eritrocitos con H_2O_2.
Vitamina K	Medición del tiempo de protrombina.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Se puede desarrollar una manifestación neurológica conocida como degeneración medular combinada subaguda, que puede deberse a una deficiencia de metionina en la médula. La deficiencia de esta vitamina provoca la acumulación de ácido metil-malónico y homocisteína en el organismo, presentándose aumento de la excreción urinaria de estas dos moléculas.

Métodos de medición

Los principales métodos son los de inmunoanálisis (RIA) y el microbiológico. Los valores de referencia para la cobalamina plasmática varían según el método de análisis, pero oscilan entre 200 y 900 ng/L (150 a 670 pmol/L). La medición en orina de metil-malónico también apoya el diagnóstico de deficiencia de vitamina B_{12}, en la que los valores de referencia son una excreción de 1 a 2 mg en 24 h. Cuando existe deficiencia de $B_{12,}$ la excreción aumenta a más de 300 mg/día.

Las mediciones bioquímicas que indican deficiencia de vitamina y minerales se muestran en los cuadros 11-1 y 11-2.

EJERCICIO

Vitaminas y minerales

1. Investigue los minerales que participan en el metabolismo intermedio.

   _____

2. Investigue la función de los siguientes minerales:
   - Fósforo _____
   - Selenio _____
   - Cobre _____
   - Cinc _____
3. Describa las formas en que se encuentra el calcio en el organismo humano.

   _____

4. Describa las pruebas para medir toxicidad de hierro y su causa.

   _____

5. Investigue las mediciones que reportan deficiencia de las siguientes vitaminas:
   - Vitamina K _____
   - Vitamina A _____
   - Vitamina B_{12} _____
   - Ácido fólico _____
6. Cite cinco vitaminas que participan como coenzimas en el metabolismo de los nutrimentos.

   _____

7. ¿Qué indica el aumento en sangre periférica de la molécula de homocisteína?

   _____

8. ¿Cuáles don los indicadores bioquímicos que sirven para complementar el diagnóstico de raquitismo?

   _____

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19a edición. Editorial Masson. 2002.

Baynes J.W. Dominiczak H: *Bioquímica médica*. 2a. Edición. Editorial Elsevier Mosby. Madrid. 2006. pp. 131, 141, 145, 351, 356.

Bourges H, Villalpando S, Vega. L, Tovar A, Torres N, Halhali A, *et al.:* *Los micronutrimentos. Aspectos teóricos y prácticos.* Ed. Fundación Mexicana para la Salud. México. 2006. pp. 53, 114, 157, 166.

Castro del Pozo, S: *Metabolismo del hierro normal y patológico.* 2ª edición. Editorial Masson. España. 1995. pp. 42, 43.

Chernecky, Berger: *Pruebas de laboratorio y procedimientos diagnósticos.* 2ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1999. pp. 761, 1122.

Guyton, MD., Arthur C. May, Ph. D., John E: Tratado de fisiología médica. 10ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2001. pp. 471, 472, 964-966.

González de Buitrago, JM. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Madrid. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid.1998. pp. 273, 284, 287, 289, 441, 449.

Henry, John Bernard. *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio.* 20ª edición. Editorial Marbán. España. 2005. pp. 195, 197,198, 200, 206, 208, 548.

Mataix Verdu, José: *Nutrición y alimentación humana*. Tomo 2. Editorial Océano/Ergan. España. 2005. pp. 182, 189, 228, 230, 242.

Mongomery, Rex. (*et al*): *Bioquímica. Casos y textos.* Editorial Harcourt Brace. España.

Ruiz Argüelles, G.J: *Fundamentos de hematología*. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana. México. 2000. p. 25.

Vives Joan, Luis. Aguilar, Joseph Luis: *Manual de técnicas de laboratorio en hematología*. 2ª edición. Editorial Masson, España. 2002.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. 4ª edición. Editorial Masson. España.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Capítulo 12

Estudio básico de orina

FUNCIONAMIENTO DEL RIÑÓN

La orina es un producto orgánico que se forma mediante la filtración del plasma sanguíneo en los riñones, para después ser transformado y eliminado por el sistema urinario.

En un riñón se distinguen tres partes:

- La corteza, donde están agrupados los glomérulos y los túbulos de todas las nefronas.
- La médula, donde están agrupados los tubos colectores y las asas de Henle.
- La pelvis renal, que recoge la orina que se forma y la conduce hacia las vías urinarias.

La nefrona es la estructura funcional del riñón, tiene forma tubular y en ella se realiza la filtración de la sangre y la elaboración de la orina; se estiman en más de un millón las nefronas existentes en cada riñón. La nefrona está formada por un glomérulo a través del que se filtra la sangre y un largo túbulo donde el líquido filtrado se convierte en orina cuando se dirige a la pelvis del riñón.

La función de la nefrona es eliminar metabolitos como los productos nitrogenados: urea, ácido úrico, creatinina y algunos iones como sodio, potasio, cloro e hidrógeno, cuando se encuentran en concentraciones altas.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Cada nefrona participa en tres procesos:

- Filtración glomerular.
- Reabsorción tubular.
- Secreción tubular.

El riñón realiza las siguientes funciones:

- Regulación del equilibrio hidroelectrolítico.
- Excreción de los productos metabólicos de desecho.

Funciones que realiza en combinación con otros órganos:

- Regulación de la presión arterial (renina).
- Regulación del equilibrio ácido base.
- Eritropoyesis.
- Gluconeogénesis.
- Formación de 1.25-dihidroxivitamina D_3.

El riñón se encarga de mantener la osmolalidad del líquido extracelular del organismo a un promedio de 285 mOsm.

El análisis de orina puede proporcionar una amplia variedad de datos clínicos referentes al riñón y a las enfermedades que pueden afectar a este órgano excretor. Por lo tanto, es una prueba esencial en la práctica clínica.

Un análisis de rutina es el examen general de orina. En la actualidad los procedimientos analíticos incluyen:

- Pruebas físicas.
- Examen químico.
- Estudio microscópico del sedimento urinario.

Recolección de muestra

Para llevar a cabo esta actividad debe cumplirse con los siguientes requisitos:

Contar con un recipiente limpio y estéril, que pueda taparse herméticamente.

- Etiquetas para asentar el nombre del paciente, así como la fecha la hora de la recolección.
- Cumplir con todas las normas de aseo previo.
- El volumen de la recolección, el que dependerá del análisis que haya que realizar (2 a 15 mL).
- La muestra debe ser examinada en un lapso de 2 h; en caso contrario, deberá refrigerarse.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Examen general de orina

Prueba física de la orina

Comprende la evaluación de color, olor, aspecto (turbidez) y densidad específica.

■ OLOR

La orina fresca normal tiene un color de compuestos aromáticos y se reporta *sui generis*. El olor es importante en la detección clínica de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce[confuso] (defecto metabólico congénito), o en problemas de infecciones urinarias se presenta un olor fétido debido a la presencia de bacterias, que causan un olor fuerte y desagradable. La cetonuria diabética provoca un olor dulce o a frutas.

■ COLOR

La descripción común del color incluye amarillo pálido, amarillo paja, amarillo claro, amarillo oscuro y amarillo ámbar. La muestra debe ser examinada bajo una buena fuente de luz y observar sobre el recipiente contra un fondo blanco.

En las variaciones del estado de hidratación corporal, es normal la diferencia en el color amarillo. Algunos colores anormales serían: amarillo anaranjado, que puede atribuirse a la presencia de bilirrubina; rosa, presencia de eritrocitos; y roja, presencia de hemoglobina. Por lo tanto, deben realizarse pruebas adicionales químicas o microscópicas para establecer el motivo de estas variaciones.

Muchos colores anormales de la orina son de naturaleza no patógena y se deben a la ingestión de alimentos, medicamentos y vitaminas muy pigmentadas.

■ ASPECTO

Esto se refiere a la transparencia de la muestra de orina y puede analizarse mediante el examen visual de la muestra, que debe estar bien mezclada y frente a una fuente de luz. La terminología empleada para informar el aspecto incluye transparente, ligeramente turbia y turbia.

El aspecto normal de una orina recién obtenida es transparente y con el paso del tiempo puede enturbiarse por precipitación de cristales (oxalatos, fosfatos).

La causa de turbidez en la orina fresca puede ser por presencia de leucocitos, eritrocitos, células epiteliales, bacterias y células de levadura, entre otros. Esto se puede comprobar con el estudio microscópico (ya que en una orina transparente no debe observarse ninguno de estos datos) o mediante el estudio químico.

■ DENSIDAD

Esta característica de la orina es útil para evaluar de manera parcial la capacidad concentradora del riñón. Sus límites normales son 1.005 a 1.030 g/L.

La densidad se define como la gravedad específica de una sustancia comparada con la de un volumen similar de agua destilada a una temperatura similar

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

y se puede medir con facilidad usando un urinómetro, un refractómetro o tira reactiva.

El hidrómetro (urinómetro) consiste en un flotador con peso determinado adherido a una escala calibrada en términos de densidad de la orina (1.000 a 1.040 g/L).

La densidad es más alta en la primera orina de la mañana en personas con función renal normal. La densidad baja se observa en enfermedades como diabetes insípida, glomerulonefritis y pielonefritis. La densidad alta se observa en diabetes mellitus, insuficiencia suprarrenal, enfermedades hepáticas e insuficiencia cardiaca.

En la actualidad la mayoría de los laboratorios están equipados con refractómetros. El índice de refracción de la orina es la relación entre la velocidad de la luz en la orina y en el vacío. La densidad aumenta con la cantidad de solutos disueltos. Este instrumento sólo requiere una gota de orina para realizar este estudio.

El uroanálisis también puede practicarse con tiras reactivas (examen químico, o química seca), o mediante un instrumento automático de análisis de orina por el método de goteo. Este tipo de pruebas son sensibles, específicas y de costo razonable.

La estructura general de las tiras reactivas esta diseñada para este tipo de reactivos de química seca. El soporte consiste en una lámina blanca de plástico sobre la que están fijadas las zonas de papel impregnado con los reactivos. Para cada parámetro hay una zona reactiva sobre la lámina soporte. Las tiras reactivas vienen en envases herméticos con un desecante en su interior. Es importante manejar adecuadamente las tiras y cerrar bien el envase una vez empleadas, pues de lo contrario pueden deteriorarse, lo que puede provocar la obtención de resultados erróneos. Las tiras reactivas proporcionan información acerca del metabolismo de los carbohidratos, la función hepática y renal, el balance ácido-base y de la infección de vías urinarias.

En la zona reactiva se lleva a cabo una reacción química productora de color cuando entra en contacto con la orina. La reacción de color se interpreta al comparar el color de cada sustancia examinada con la tabla que se encuentra en el frasco que las contiene. Actualmente existen analizadores automatizados para facilitar esta lectura.

Forma de trabajo con la tira reactiva

La manera de utilizar este material es el siguiente:

1) Sumergir la tira reactiva en la orina (figura 12-1).
2) Eliminar el exceso de orina.
3) Una vez transcurrido el tiempo indicado en las instrucciones del fabricante para cada zona reactiva (que puede ser de 30 segundos a 2 minutos), leer el resultado, lo que puede hacerse visualmente (por comparación) o empleando un fotómetro de reflexión.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

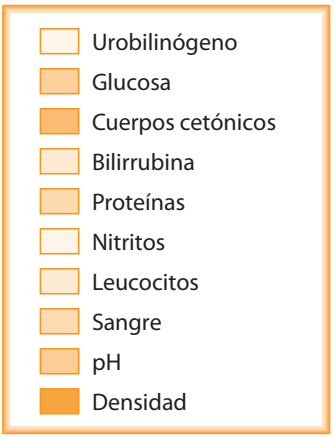


Figura 12-1. Tiras reactivas para uroanálisis.

Parámetros que miden las tiras reactivas

■ PH

El pH de la orina refleja la capacidad del riñón para mantener una concentración normal de hidrogeniones en el plasma y en los líquidos extracelulares. El pH normal en el adulto es de 5.5 a 6.5 y lo cual depende de la composición de la dieta, presentándose una ligera "marea alcalina" posprandial fisiológica.

En ciertas infecciones urinarias por *Proteus pseudomonas* puede presentarse un pH que puede llegar hasta 9. Los reactivos de la tira para medir pH son dos indicadores: rojo de metilo y azul de bromotimol. El color naranja indica un pH ácido y los colores verde y azul son indicativos de un pH alcalino.

■ PROTEÍNAS

Normalmente se eliminan pequeñas cantidades no detectables por las mediciones usuales. La orina normal contiene muy poca proteína y por lo general se excreta menos de 10 o 100 mg en 24 h. Éstas consisten principalmente en proteínas séricas de bajo peso molecular que se han filtrado de manera selectiva en el glomérulo. Debido a su bajo peso molecular, la albúmina es la principal proteína sérica que existe en la orina normal.

La presencia notable de proteínas es típica de enfermedades glomerulares que permiten pasar al interior del espacio de Bowman grandes cantidades de albúmina que no pueden ser reabsorbidas en su totalidad por las células proximales. Ante cifras superiores a 250 mg/24 h se requiere realizar pruebas renales, debido a que esta lectura se presenta en pacientes con síndrome nefrótico, glomerulonefritis y lupus eritematoso.

Además de la albúmina sérica, también se pierden otras proteínas de tamaño y carga similar, como la antitrombina, la transferrina, la prealbúmina y la α glucoproteína.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Para la determinación de la proteinuria se utiliza la tira reactiva (química seca), que se basa en un indicador; esta tira está impregnada con azul de tetrabromofenol tamponado con un pH de 3, que en presencia de proteínas modifica el pH y el color amarillo de la zona reactiva, que cambia a verde en un plazo de 30 a 60 seg. Puede detectarse cantidades entre 5 y 25 mg/dL de albúmina y cantidades mayores de globulinas.

Considerando que una orina alcalina puede dar falsos positivos, es conveniente llevar a cabo de manera simultánea una prueba de turbidez en medio ácido para la detección de proteínas. Las pruebas para confirmar un resultado positivo es la precipitación con ácido y puede utilizarse ácido sulfosalicílico al 4%, ácido nítrico, acético o tricloracético. Estos ácidos precipitan tanto la albúmina como las globulinas.

Estos métodos se basan en que la proteína desnaturalizada por el ácido precipita y hace que la muestra de orina se vuelva más turbia cuanto mayor es la concentración de proteína. Se sugiere realizar esta prueba con orina de 24 h. La turbidez se determina mediante espectrofotómetro o nefelómetro.

■ GLUCOSA

Debido a su valor en la detección y vigilancia de la diabetes mellitus, la prueba de la glucosa es el análisis químico practicado con mayor frecuencia en pacientes normales. Casi toda la glucosa filtrada en los glomérulos se reabsorbe en el túbulo contorneado proximal y por lo tanto no se detecta glucosa en orina.

■ UMBRAL RENAL PARA GLUCOSA

La resorción tubular de glucosa ocurre mediante el transporte activo en respuesta a las necesidades corporales para conservar una concentración adecuada de glucosa. Si se eleva la glicemia (como en la diabetes mellitus), cesa el transporte tubular de glucosa y ésta aparece en orina. La concentración sanguínea en que cesa la resorción tubular para glucosa es entre 180 a 200 mg/dL, donde se acompaña de poliuria compensadora. En la prueba para la detección de glucosa, se recomienda el ayuno antes de la obtención de la muestra para evitar errores.

Puede aparecer glucosuria en otros trastornos endocrinos tanto hipofisarios como de suprarrenales, o en tumores funcionales de células pancreáticas α o β, así como en el hipertiroidismo.

Para el análisis de orina se utiliza un método específico de glucosa-oxidasa y peroxidasa, una reacción enzimática de doble secuencia; de esta forma, la medición es semicuantitativa y su registro se hace en mg/dL.

■ REACCIÓN

- Glucosa + O_2 Glucosa-oxidasa Ácido glucorónico + H_2O_2
- H_2O_2 + Cromógeno Peroxidasa Cromógeno oxidado + H_2O

■ CETONAS

Normalmente no aparecen cantidades cuantificables de cetonas en orina debido a que toda la grasa metabolizada es desdoblada por completo hasta dióxido de carbono y agua.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

El término cetonas representa tres productos intermedios del metabolismo de las grasas al momento de metabolizarse grandes cantidades de ácidos grasos. Se presentan en la síntesis de cuerpos cetónicos en el hígado, los caules son acetona, ácido acetoacético y ácido β-hidroxibutírico, que aparecen en sangre y son eliminados por la orina en la siguiente proporción: ácido acetoacético, 20%; acetona, 2%; y ácido β- hidroxibutírico, 78%.

Cuando se altera el uso de carbohidratos como fuente principal de energía y deben metabolizarse las reservas corporales de grasa para proporcionar energía, se detectan cetonas en la orina. Esto ocurre en casos de diabetes mellitus tipo 1, pérdida elevada de carbohidratos por vómito o por ayuno prolongado (inanición, dietas desequilibradas).

Las tiras reactivas emplean la reacción con nitroprusiato de sodio en medio alcalino y en presencia de acetona y ácido acetoacético producen un color púrpura. El nivel de detección es de 5 a 10 mg/dL de ácido acetoacético.

■ HEMOGLOBINA

La hemoglobina se presenta en la orina después de una hemólisis importante (anemias hemolíticas), donde entra en filtrado glomerular y puede detectarse en la orina. Esto también ocurre cuando hay lesión de los tejidos del sistema urinario, en reacciones transfusionales y esfuerzos físicos violentos o sostenidos.

Las tira reactivas para detectar hemoglobina contienen en su superficie la enzima peroxidasa y un cromógeno (ortotluidina, trametilbencidina); al entrar en contacto con la hemoglobina se produce un cromógeno oxidado que presenta un color verde azulado. Las tiras reactivas pueden detectar concentraciones entre 5 y 10 eritrocitos por microlitro y de 0.05 a 0.3 mg de hemoglobina/dL de orina.

■ BILIRRUBINA

Este pigmento biliar proviene del desdoblamiento del grupo HEM de la hemoglobina. La orina normal no contiene bilirrubina. La aparición de bilirrubina en orina en todos aquellos procesos en que se encuentre aumentada la bilirrubina conjugada (bilirrubina directa) en sangre constituye la primera señal de enfermedad hepática y con frecuencia se detecta mucho antes del desarrollo de ictericia.

En algunas enfermedades hepáticas, principalmente las causadas por agentes infecciosos (virus, bacterias) o tóxicos, el hígado no puede secretar la bilirrubina conjugada a la bilis y pasa a la circulación, donde finalmente es eliminada por orina. También se presenta bilirrubinemia y bilirrubinuria en las enfermedades obstructivas del tracto biliar.

Las tiras reactivas también sirven para la determinación de bilirrubina en orina, con el reactivo utilizado en el método de Van der Bergh mediante diazorreacción. Se detecta bilirrubina positiva cuando las cantidades en orina son superiores a 0.05 a 0.1 mg/dL.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

■ UROBILINÓGENO

La bilirrubina conjugada secretada por el hígado a la bilis se excreta al tracto intestinal por medio de los conductos biliares, en los que la acción bacteriana convierte la bilirrubina en urobilinógeno, que es excretado por las heces en forma de urobilina (estercobilina). Una parte de este urobilinógeno es absorbido de nuevo por el intestino y pasa a la circulación portal, donde es eliminado por el hígado y una pequeña porción de urobilinógeno es eliminada por orina. La concentración de urobilinógeno eliminado por orina varía de 0.5 a 3.0 mg en 24 h.

Se observa aumento de urobilinógeno urinario en enfermedad hepática impide eliminar el urobilinógeno reabsorbido de la circulación portal, por ejemplo en problemas hemolíticos, hepatitis infecciosas o tóxicas y en hemorragias intensas. Su determinación se basa en la prueba del aldehído de Ehrlich. La tira reactiva está impregnada con paradimetil-amino-benzaldehído (reactivo de Ehrlich) que produce un color rojo pardusco al entrar en contacto con el urobilinógeno. La medición de urobilinógeno en orina debe ser inmediata; en caso contrario, la orina debe guardarse en recipientes oscuros.

Estudio del sedimento urinario

Para llevar a cabo este estudio se requiere orina fresca no refrigerada. Una vez que se ha mezclado bien la orina, se colocan 10 mL en un tubo de centrífuga a 2000 rpm durante 5 min; pasado este tiempo, se decanta el sobrenadante a otro tubo y se resuspende el sedimento en 1 mL de orina. El sedimento es colocado entre un portaobjeto y un cubreobjeto y se observa al microscopio a 100x; se examinan 10 campos sin colorante en un microscopio en campo claro. La observación del sedimento es más fácil si se utiliza colorante; en este proceso, los dos colorantes más utilizados son safranina y cristal violeta (Sternheimer, 1951).

Los valores numéricos normales son aproximadamente:

- Eritrocitos de 0 a 2/C.
- Leucocitos de 0 a 5/C.
- Células epiteliales escamosas- (escasas).
- Cristales de oxalato de calcio (escasos).
- Cristales de uratos o fosfatos amorfos (escasos).

En un sedimento urinario no deben estar presentes:

- Bacterias.
- Leucocitos (más de 5 por campo).
- Eritrocitos (más de 2 por campo).
- Levaduras.
- *Trichomonas.*
- Cilindros (hialinos, granulosos).
- Células tubulares renales.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

■ BACTERIURIA (REACCIÓN DEL NITRITO)

Cuando existe contaminación de vías urinarias, la prueba de nitritos (Griess) permite la detección rápida de bacterias en la orina en forma cualitativa y colorimétrica.

La base química de la prueba de nitritos es la capacidad de ciertas bacterias para reducir el nitrato a nitrito, que produce un color rosa. Es importante saber que esta prueba no sustituye el estudio del urocultivo. No todas las bacterias de vías urinarias pueden formar nitritos, pero sí las enterobacteriáceas (específicamente la *E. coli* y en menor grado *Proteus*, salmonelas del grupo disentérico), pero no puede detectar al *St. viridians* ni enterococos. Esta prueba contribuye al diagnóstico de infecciones urinarias, pero su negatividad no lo excluye. Por lo tanto, deben realizarse cultivos bacterianos en orina para identificar la bacteria y la cantidad de colonias (estudio de urocultivo).

■ LEUCOCITOS

Las muestras de orina normal presentan de 0 a 5 leucocitos/campo. La presencia de leucocitos indica una posible infección bacteriana de vías urinarias. El tipo predominante es el leucocito polimorfonuclear o neutrófilos. La presencia importante de leucocitos en orina se denomina piuria y se presenta en todas las enfermedades infecciosas tanto renales (como la pielonefritis y la glomerulonefritis) como de las vías urinarias (como cistitis, prostatitis y uretritis). La detección de leucocitos puede realizarse mediante examen microscópico del sedimento urinario o con la tira reactiva.

Los granulocitos neutrófilos contienen muchas esterasas que catalizan la hidrólisis de un éster para producir su alcohol y su ácido. Por lo tanto, el nivel de esterasas de la orina está en relación con el número de neutrófilos existentes. La tira reactiva para esterasa leucocitaria utiliza como reactivo el indoxilo, que reacciona con la sal de diazonio y da color púrpura.

■ ERITROCITOS

La orina normal contiene sólo algunos eritrocitos (menos de 2 por campo a 40x). El aumento de los eritrocitos en orina se debe a diferentes causas, tales como enfermedades renales (glomerulonefritis, nefritis intersticial, cálculos renales, tumores y traumatismos) y de las vías urinarias. La hematuria visible implica hemorragia y el color de la orina va de rojo a marrón y es turbia. La sangre en orina puede encontrarse como eritrocitos intactos (hematuria) o como hemoglobinuria, producto de la destrucción de eritrocitos.

■ CÉLULAS EPITELIALES

En el estudio del sedimento urinario pueden observarse células de descamación de los epitelios del tracto urinario, pudiendo detectarse células epiteliales de vejiga, tubulares, renales y otras. Las que se encuentran con más frecuencia son las epiteliales de vejiga, que presentan formas cuboides, planas o redondas.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

■ CILINDROS

Estos elementos se localizan en el sedimento urinario; se derivan de las proteínas en los túbulos de las neuronas y representan en cierta forma moldes de las nefronas, o parte de ellas. Todos los cilindros tienen una matriz hialina y en algunos casos pueden presentar inclusiones (eritrocitos, leucocitos, células tubulares). A estos cilindros se les denomina cilindros granulosos y se presentan en enfermedad renal, en evento de ejercicio físico o en presencia de fiebre.

■ UROCULTIVO

Este estudio está diseñado para detectar a los agentes causales de infección de las vías urinarias. Estas infecciones son más frecuentes en la mujer, pero puede presentarse en cualquier edad y sexo. Hay infecciones inaparentes que no muestran síntomas, pero pueden detectarse por la reacción de los nitritos y confirmarse con el urocultivo.

Las bacterias que más frecuentemente infectan vías urinarias son las enterobacteriáceas y otras bacterias que se hallan comúnmente en el intestino humano, tales como *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Streptococcus fecalis* y *Pseudomona aeruginosa.*

■ TIPO DE MUESTRAS PARA UROCULTIVO

- **Micción limpia.** Muestras con previo aseo y segunda micción en un frasco estéril y sin presencia de antibióticos.
- **Aspiración suprapúbica.** Muestra obtenida por aspiración suprapúbica (lactantes) ante sospecha de infecciones anaerobias.
- **Sondaje vesical.** Muestra obtenida por instrumentación (generalmente cateterismo o cistoscopia).
- **Bolsa colectora.** Muestra obtenida en niños menores de 3 años.

La muestra de orina debe ser adecuada para evitar contaminación fecal, de piel y vaginal.

Asimismo, debe cultivarse en la siguiente hora; de no ser posible esto, debe refrigerarse.

El procedimiento incluye los siguientes datos:

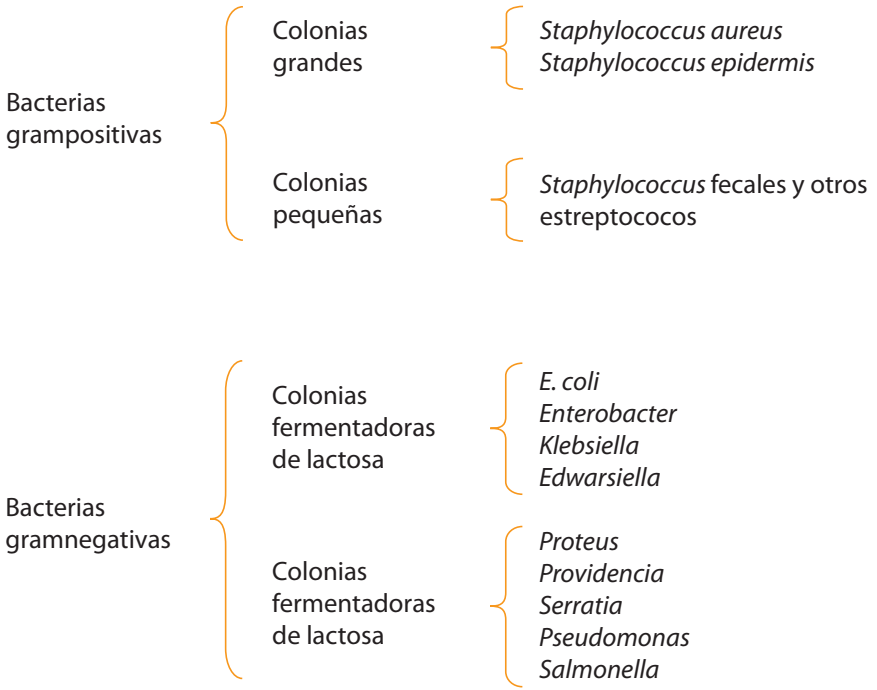
Examen microscópico de la orina. Consiste en colocar una gota de orina entre un portaobjetos y un cubreobjetos y observar en el microscopio a seco fuerte (40x). La utilidad de este examen es que pueden detectar leucocitos, eritrocitos o bacterias. También se puede observar si son cocos (generalmente *St. fecalis*) o bacilos móviles.

Cuenta de colonias (Kass *et al*). El procedimiento consiste en hacer diluciones 1:10, 1:100, 1:1 000 y 1:10 000. Se coloca en una caja de Petri 1 mL de la dilución y se le agregan 15 mL de agar tripticase y soya; se mezcla, se deja reposar 1 h para que endurezca y se incuba durante 16 a 36 h. Después de la incubación, se cuenta el número de colonias y se multiplica por la dilución correspondiente, lo que dará por resultado el número de bacterias/mL de orina del paciente.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Interpretación. Cifras de 100 000 ufc/mL o mayores indican presencia de infección; 10 000 ufc/mL reportan probable infección, por lo que se sugiere repetirlo con nueva muestra; menos colonias indican contaminación o tratamiento antimicrobiano.

Cultivo. Se requiere realizar cultivo de orina en medios diferenciales para conocer el tipo de bacterias.



Antibiograma. Buscando ha sido identificado el agente causal en el laboratorio, esto puede ayudar a seleccionar un medicamento al que el microorganismo sea susceptible. La sensibilidad a los antibióticos se realiza *in vitro* en agar de Muller-Hinton aplicando sensidiscos. Algunos antibióticos que se prueban en un antibiograma para urocultivo son: Nitrofurantoína, cefalosporinas de primera generación, Ciprofloxacina, Norfloxacina, Amoxicilina/ácido clavulánico, Ciprofloxacina y Norfloxacina.

Los tamaños de las zonas de inhibición de crecimiento varían de acuerdo con las características moleculares de cada medicamento. Esto debe estar en condiciones estándar y compararse con un patrón. Para lo anterior se toma el diámetro mínimo de la zona de inhibición, que denota susceptibilidad de un microorganismo.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

EJERCICIO

Estudio básico de orina

GENERAL DE ORINA

Examen	Resultados
Aspecto	Ligeramente turbio
Color	Pardo
Densidad urinaria	1.020
pH	8.0
Proteínas	Negativo
Glucosa	Positiva + +
Cetonas	Negativo
Bilirrubina	Positiva
Hemoglobina	Negativa
Nitritos	Positivos
Uribilinógeno	6 unidades Ehrlich
Eritrocitos	4/campo
Leucocitos	25/campo
Células epiteliales	Moderadas
Cristales	Escasos, amorfos
Bacterias	Abundantes

1. Describa los datos que incluye un estudio físico general de orina.

2. Describa los datos que incluye un estudio químico de orina.

3. Describa la utilidad del estudio de sedimentación de orina.

4. Proporcione los datos de un estudio general de orina que son útiles para el diagnóstico de infección urinaria.

5. Describa tres funciones básicas del riñón.

6. Refiera cuáles son los datos requeridos en un estudio de orina para el control de pacientes con diabetes.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

7. Defina qué representa el dato **densidad** en un estudio general de orina.

8. Mencione las técnicas para medir las proteínas en orina.

9. Describa en qué procesos patológicos se encuentran cilindros hialinos y granulosos en el sedimento urinario.

10. ¿Qué bacterias causan infección urinaria con mayor frecuencia?

REFERENCIAS

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19ª edición. Editorial Masson. 2002. pp. 8,17.

González de Buitrago, JM. (*et al*): *Bioquímica clínica*Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. 1998. pp. 46, 483, 488, 490, 491, 492.

Kass E. H: Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. *Arch Intern Med*. 1957;100:709-14.

King Stransiger, Susan*: Líquidos corporales y análisis de orina*. Ed. El Manual Moderno. México. 1992. pp. 57, 58.

Morrison Treseler, Kathleen: *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico*. Editorial El Manual Moderno. México. 1998. pp. 135, 158.

Medina Escobedo, Martha: Comparación entre las lecturas de las tiras de orina Combur 10test® M y Multistix® 10 SG. *Bioquímica*, julio-septiembre, año/vol. 30. Número 03. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. México. p. 77.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Referencias

Balcells, Alfonso: *La clínica y el laboratorio*. 19ª edición. Editorial Masson. 2002.

Baynes JW: Dominiczak H. Bioquímica médica. 2a. Edición. Editorial Elsevier Mosby. Madrid. 2006.

Burns Ralph A: *Fundamentos de química*. 2a edición. Editorial Prentice. 1996.

Casanueva, Esther: *Nutriología médica*. 2ª edición. Editorial Panamericana. México. 2001.

Castro del Pozo, S: *Metabolismo del hierro normal y patológico.* 2ª edición. Editorial Masson. España. 1995.

Chernecky, Berger: *Pruebas de laboratorio y procedimientos diagnósticos.* 2ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1999.

Flores Alfaro E., Parra Rojas I: Pruebas presuntivas del análisis de orina en el diagnóstico de infección en vías urinarias entre diabéticos tipo 2. *Rev. Salud Pública de México.* Vol. 47. Núm. 5. pp. 377-380.

Gil, José Luis: *Hematología sin microscopio*. Editorial Masson. España. 2003.

González de Buitrago, JM. (*et al*): *Bioquímica clínica*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. 1998.

González de Buitrago, JM: *Técnicas y métodos de laboratorio clínico.* 2ª edición. Editorial Masson. España. 2004.

Guyton, M.D., Arthur C. May, Ph. D., John E: *Tratado de fisiología fédica.* 10ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2001.

Harrison: *Principios de medicina interna.* 14ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1998.

Henry, John Bernard: *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio.* 20ª edición. Editorial Marbán. España. 2007.

Hicks, J.J: *Bioquímica*. 1ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 2001.

Hillman S. Robert. (*et al*): *Manual de hematología*. Editorial El Manual Moderno. México. 1998.

Janeway, Jr. Charles. (*et al*): *Inmunobiología*. 2ª edición. Editorial Masson. España. 2003.

Kaplan, Laurence A., AJ. Pesce: *Química clínica*. Editorial Médica Panamericana. Argentina.

Mahan, L. Kathleen. Escott-Stump, Sylvia: *Nutrición y dietoterapia de Krause.* 10ª. edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. México. 2001.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

McKee Trudy, McKee, James: *Bioquímica. La base molecular de la vida.*. Editorial McGraw Hill Interamericana. España. 2003.

Mataix Verdu, José: *Nutrición y alimentación humana*. Tomo 2. Editorial Océano/Ergan. España. 2005.

Medina Escobedo, Martha: Comparación entre las lecturas de las tiras de orina Combur 10test® M y Multistix® 10 SG. *Bioquímica*, julio-septiembre, año/Vol. 30. Núm. 03. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. México. p. 7.

Mongomery, Rex. (*et al*): *Bioquímica. Casos y textos.* Editorial Harcourt Brace. España.

Morán Villatoro, Luis: *Obtención de muestras sanguíneas de calidad analítica*. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. Editorial Panamericana. México. 2001.

Morrison Treseler, Kathleen: *Laboratorio clínico y pruebas de diagnóstico.* Editorial El Manual Moderno. México. 1998.

Murray Robert K. (*et al*): *Bioquímica ilustrada Harper.* 28ª edición. McGraw-Hill Interamericana. México. 2010. pp. 51-59.

Murray, Robert K. (*et al*): *Bioquímica de Harper.* 17ª edición. Editorial El Manual Moderno. México. 2007.

Oehling. A: *Alergología e inmunología clínica. Fundamentos de la respuesta alérgica*. Editorial McGraw-Hill Interamericana.

R. Yturriaga, C: Diéguez. *Trastornos alimentarios.* Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2002.

Ruiz Argüelles, GJ: *Fundamentos de hematología*. 3ª edición. Editorial Médica Panamericana. México. 2000.

Salas Salvadó, Jordi. (*et al.*): *Nutrición y dietética clínica.* Editorial Masson. España. 2002.

Porbén S S.,, Barreto Penié, J., Martínez González, C.: Evaluación Nutricional. Revista Cubana. Vol 11- Dic-2003.

Hernández, Leydiana: *Evaluación nutricional.* 2003.

Lipid League: "*Triglycerids*". A risk factor for cardiovascular disease. 2003.

Shils, Maurice E. Olson, James A. Shike, Moshe. Ross A., Catharine: *Nutrición en salud y enfermedad*. 9ª edición. Volumen II. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 2002.

The American Dietetic Association: Manual of Clinical Dietetics. Fifth edition. Section I: *Nutrition Assessment of adults.* 1996.

Tippens, Paule: *Física. Conceptos y aplicación*. 2ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 1992.

Todd Stanford, Davidsohn: *Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio.* 8ª edición. Editorial Salvat. España. 1988.

Todd Stanford, Davidson, Henry: *Laboratorio.* 1ª edición. Marbán España, 2007.

Torres, Rocío Elena: *Nutrición Clínica*. El balance nitrogenado y su importancia clínica. Vol. 1. Enero-febrero, 1998.

Vives Joan, Luis Aguilar, Joseph Luis: *Manual de técnicas de laboratorio en hematología*. 2ª edición. Editorial Masson. España. 2002.

Wallach Jacques: *Interpretación clínica de las pruebas de laboratorio*. 4ª edición. Editorial Masson. España. 2002.

Whitten, Kennet W. (*et al*): *Química general*. 3a edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 1992.

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Anexos

Valores bioquímicos de referencia

Hematócrito (HCT)

		Unidades SI
Mujer	37 a 47%	0.34 a 0.47L/L
Embarazo		
1er. trimestre	35 a 46%	0.35 a 0.46L/L
2o. trimestre	30 a 42%	0.30 a 0.42L/L
3er. trimestre	34 a 44%	0.34 a 0.44 L/L
Posparto	34 a 44%	0.34 a 0.44 L/L
Varón	40 a 54%	0.40 a 0.54 L/L
Niño(a)		
Recién nacido	42 a 68%	0.42 a 0.68 L/L
Tres meses	29 a 54%	0.29 a 0.54 L/L
Un año	29 a 41%	0.29 a 0.51 L/L
Tres años	31 a 44%	0.31 a 0.44 L/L
Diez años	34 a 45%	0.34 a 0.45 L/L

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Hemoglobina (HGB)

		Unidades SI
Mujer	12 a 16 g/dL	7.4 a 9.9 mmol/L
Embarazo		
1er. trimestre	11.4 a 15.0 g/dL	7.1 a 9.3 mmol/L
2o. trimestre	10.0 a 14.3 g/dL	6.2 a 8.9 mmol/L
3er. trimestre	10.2 a 14.4 g/dL	6.3 a 8.9 mmol/L
Posparto	10.4 a 15.0 g/ dL	6.4 a 9.3 mmol/L
Varón	14.0 a 18.0 g/dL	8.7 a 11.2 mmol/L
Valores altos (alarma)	< 5 g/dL	< 3.1 mmol/L
	> 18 g/dL	> 11.2 mmol/L
Recién nacido		
Día uno	15.5 a 24.5 g/dL	9.6 a 15.2 mmol/L
Días 2 a 3	19.0 g/dL	11.8 mmol/L
Días 4 a 8	14.3 a 22.3 g/dL	8.9 a 13.8 mmol/L
Días 9 a 13	16.5 g/dL	10.2 mmol/L
2 a 8 semanas	10.7 a 17.3 g/dL	6.6 a 10.7 mmol/L
Niño(a)		
3 a 5 meses	9.9 a 15.5 g/dL	6.1 a 9.6 mmol/L
6 a 11 meses	11.8 g/dL	7.3 mmol/L
1 a 2 años	9.0 a 14.6 g/dL	5.6 a 9.0 mmol/L
3 a 9 años	9.4 a 15.5 g/dL	5.8 a 9.6 mmol/L
10 años	10.7 a 15.5 g/dL	6.6 a 9.6 mmol/L
11 a 15 años	13.4 g/dL	8.3 mmol/L
Valores altos (alarma)	< 5 g/dL	< 3.1 mmol/L
	> 18 g/dL	> 11.2 mmol/L

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Volumen corpuscular medio (MVC)

		Unidades SI
Adulto	82 a 93 fl	82 a 98 fl
Recién nacido		
Día uno	106 fl	106 fl
Día 2 a 3	105 fl	105 fl
Día 4 a 8	103 fl	103 fl
Día 9 a 13	98 fl	98 fl
2 a 8 semanas	90 fl	90 fl
3 meses	82 fl	82 fl
Niño(a)		
4 a 5 meses	80 fl	80 fl
6 a 11meses	77 fl	77 fl
1 año	78 fl	78 fl
2 años	77 fl	77 fl
3 años	79 fl	79 fl
4 a 10 años	80 fl	80 fl
11 a 15 años	82 fl	82 fl

Hemoglobina corpuscular media (MCH)

		Unidades SI
Adulto	26 a 34 pg	1.62 a 2.11 fmol
Recién nacido		
Día uno	38 pg	2.36 fmol
Día 2 a 3	37 pg	2.30 fmol
Día 4 a 8	36 pg	2.23 fmol
Día 9 a 13	33 pg	2.05 fmol
2 a 8 semanas	30 pg	1.86 fmol
Niño(a)		
3 meses	28 pg	1.73 fmol
4 a 5 meses	27pg	1.67 fmol
6 a 11meses	26 pg	1.61 fmol
1 a 2 años	25 pg	1.55 fmol
3 años	26 pg	1.61 fmol
4 a 10 años	27 pg	1.67 fmol
11 a 15 años	28 pg	1.73 fmol

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Hierro (Fe) y capacidad total de fijación del hierro TIBC, transferrina en suero

	Unidades convencionales	Unidades SI
Hierro		
Mujer	40 a 150 µg/dL	7.2 a 26.9 µmol/L
Varón	50 a 160 µg/dL	8.9 a 28.7 µmol/L
Recién nacido	100 a 250 µg/dL	17.9 a 44.8 µmol/L
Lactante	40 a 100 µg/dL	7.2 a 17.9 µmol/L
Niño(a)	50 a 120 µg/dL	8.9 a 21.5 µmol/L
TIBC		
Adulto	250 a 400 µg/dL	44.8 a 71.6 µmol/L
Materna	100 a 400 µ/dL	17.9 a 71.6 µmol/L
Transferrina		
Adulto	200 a 400 mg/dL	2 a 4 g/L
Materna	305 mg/dL	3.0 g/L
(Término)		
Fetal	190 mg/dL	1.9 g/L
Recién nacido	130 a 275 mg/dL	1.3 a 2.8 mg/L

Nitrógeno de la urea

	Unidades convencionales	Unidades SI
Adulto joven (menor de 40 años)	5 a 18 mg/dL	1.8 a 6.5 mmol/L
Adulto	5 a 20 mg/dL	1.8 a 7.1 mmol/L
Anciano (mayor de 60 años)	8 a 21 mg/dL	2.9 a 7.5 mmol/L
Azotemia moderada	20 a 50 mg/dL	7.1 a 17.7 mmol/L
Valores altos (alarma)	> 100 mg/dL	> 35.7 mmol/L
Niño(a)		
Sangre del cordón umbilical	21 a 40 mg/dL	7.5 a 14.3 mmol/L
Prematuro durante los primeros siete días	3 a 25 mg/dL	0.1 a 0.9 mmol/L
Recién nacido a término	4 a 18 mg/dL	1.4 a 6.4 mmol/L
Lactante	5 a 18 mg/dL	1.8 a 6.4 mmol/L
Niño	5 a 18 mg/dL	1.8 a 6.4 mmol/L

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Depuración de creatinina en suero y orina

Mujer			Varón	
Edad	**mL/min**	**Unidades SI mL/s**	**mL/min**	**Unidades SI mL/s**
≤ 20	84	1.4	90	1.5
21 a 30	90	1.5	96	1.6
31 a 40	96	1.6	102	1.7
41 a 50	102	1.7	108	1.8
51 a 60	108	1.8	114	1.9
61 a 70	114	1.9	120	2.0
71 a 80	120	2.0	126	2.1
81 a 90	126	2.1	132	2.2
91 a 100	132	2.2	138	2.3

Niño(a)		
Edad	**mL/min**	**Unidades SIMl/s**
< 1	72	1.2
1	45	0.8
2	55	0.9
3	60	1.0
4 a 5	71 a 73	1.2
6 a 7	64 a 67	1.1
8	72	1.2
9	83	1.4
10 a 11	89 a 92	1.5
12	109	1.8
13 a 14	86	1.4
	Creatinina en orina	**Unidades SI**
Adulto	14 a 26 mg/kg/24 h	124 a 230 µmol/kg/día
Mujer	600 a 1800 mg/kg/24 h	5.3 a 16 µmol/kg/día
Varón	800 a 2000 mg/kg/24 h	7 a 18 µmol/kg/día
Niño(a)	8 a 22 mg/kg/24 h	71 a 195 µmol/kg/día
Ácido úrico en suero		
Adulto	**Unidades convencionales**	**Unidades SI**
Mujer	2.4 a 6.0 mg/dL	143 a 357 µmol/L
Varón	3.4 a 7.0 mg/dL	202 a 416 µmol/L
Niño(a)	2.2 a 5.5 mg/dL	119 a 327 µmol/L
Norma: De 46 a 56% del calcio total en suero corresponde a calcio ionizado.		

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Hemoglobina glucosilada (GHB) HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}

	Porcentaje del total de Hb
Total de HbA_{1a}, HbA_{1b}, HbA_{1c}	5.5 a 8.8
Diabetes controlada	7.5 a 11.4
Diabetes menos controlada	11.5 a 15
Diabetes fuera de control	> 15
Cetoacidosis	14.3 a 20
Cromatografía líquida de alto rendimiento	
HbAIa,	1.8
HbAIb,	0.8
HbAIc	3.5 a 6.0

Prueba de tolerancia a la glucosa oral

	Unidades convencionales	Unidades SI
Ayuno	70 a 110 mg/dL	3.9 a 6.1 mmol/L
30 min	30 a 60 mg/dL sobre nivel en ayuno	1.7 a 3.3mmol/L
60 min	20 a 50 mg/dL sobre nivel en ayuno	1.1 a 2.8 mmol/L
120 min	5 a 15 mg/dL sobre nivel en ayuno	8.0 a 8.5 mmol/L
180 min	Igual o inferior al nivel en ayuno	≤ 6.6 mmol/L

Transtirretina (TTR), prealbúmina (PA, prealbúmina rica en triptófano) en suero

		Unidades SI
Adulto	10 a 40 mg/dL	100 a 400 mg/L
Varón	(media) 21.5 mg/dL	(media) 215 mg/L
Mujer	(media) 18.2 mg/dL	(media) 182 mg/L
Periodo maternal	17 a 18.6 mg/dL	170 a 186 mg/L
Niño(a)		
Cordón umbilical	(media) 13 mg/dL	(media) 130 mg/L
Recién nacido	10.4 a 11.4 mg/dL	104 a 114 mg/L
De 12 meses	(media) 10 mg/dL	(media) 100 mg/L
De 24 a 36 meses	16 a 28.1 mg/dL	160 a 281 mg/L

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Transferrina en suero

	Unidades convencionales	Unidades SI
Adulto	200 a 400 mg/dL	2 a 4.0 g/L
Materna (término)	305 mg/dL	3.0 g/L
Fetal	190 mg/dL	1.9 g/L
Recién nacido	130 a 275 mg/dL	1.3 a 2.8 g/L

Albúmina en suero, en orina y en orina de 24 h

		Unidades SI
Suero		
Adulto	3.8 a 5.0 g/dL	38 a 50 g/L
> 60 años	3.4 a 4.8 g/dL	34 a 48 g/L
Promedio en reposo	0.3 g/dL	3 g/L
Orina		
Adulto en reposo	2 a 80 mg/24h	0.03 a 0.08 g/día
Adulto ambulatorio	< 150 mg/24h	< 0.15 g/día
Niño <10 años	< 100 mg/24h	< 0.10 g/día

Proteínas totales		Unidades SI
Adulto	6.0 a 7.8 g/dL	60 a 78 g/L
Niño(a)		
Prematuro	4.3 a 7.6 g/dL	43 a 76 g/L
Recién nacido	4.6 a 7.4 g/dL	46 a 74 g/L
Niño pequeño	6.0 a 6.7 g/dL	60 a 67 g/L
Niño mayor	6.2 a 8.0 g/dL	2 a 80 g/L

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

	Fructosamina en suero
Adulto	
No diabético	1.5 a 2.7 mmol/L
Diabético	> 2.0 a 5.0 mmol/L
Niño(a)	5% por debajo de los valores del adulto

Calcio ionizado en suero

	Unidades convencionales	Unidades SI
Adulto	4.64 a 5.28 mg/dL	1.16 a 1.32 mmol/L
Recién nacido	4.88 a 5.92 mg/dL	1.22 1.48 mmol/L
Niños y adolescentes	4.80 a 5.52 mg/dL	1.20 a 1.38 mmol/L
Norma: De 46 a 56% del calcio total en suero corresponde a calcio ionizado.		

Calcio total en suero

	Unidades convencionales	Unidades SI
Adulto		
18 a 60 años	8.6 a 10.0 mg/dL	2.15 a 2.50 mmol/L
60 a 90 años	8.8 a 10.2 mg/dL	2.2 a 2.55 mmol/L
Niño(a)		
Recién nacido		
Menos de 10 días	7.6 a 10.4 mg/dL	1.90 a 2.60 mmol/L
De 2 a 12 años	8.8 a 10.8 mg/dL	2.20 a 2.70 mmol/L
De 12 a 18 años	8.4 a 10.2 mg/dL	2.10 a 2.55 mmol/L

Fósforo en suero

	Unidades convencionales	Unidades SI
Adulto		
Adulto < 60 años	2.7 a 4.5 mg/dL	0.87-1.45 mmol/L
Mujer mayor de 60 años	2.8 a 4.1 mg/dL	0.90-1.30 mmol/L
Varón mayor de 60 años	2.3 a 3.7 mg/dL	0.74-1.20 mmol/L
Niño(a)		
Lactante (10 días a 1 año)	4.5 a 6.7 mg/dL	1.45-2.16 mmol/L
Niño (24 meses a 12 años)	4.5 a 5.5 mg/dL	1.45-1.78 mmol/L

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

ÍNDICE

NOTA: Los números de página en **negritas** indican cuadros y en *cursivas* corresponden a figuras.

A

Absorbancia, 15
Ácido(s)
  ascórbico, 111
  biliares, 95, 96
  cítrico, 107
  fólico, 41, 50, 157
    pteroilglutámico, 50
  glutámico, 91
  grasos,
    libres, 102
    no esterificados, 96
  L-ascórbico, 153
  nicotínico, 155
  pteroilpoliglutámico, 158
  retinoico, 147
  ribonucleico (RNA), 39
  sulfanílico diazotizado, 46
  úrico, 3, 89
    en suero, **185**
Actividad enzimática en suero, 120
Adrenalina, 109
AGL (ácido grasos libres), 102
Alanina aminotransferasa (ALT), 120, 125
Albúmina, 3, 75, 78
  en orina, **187**
  en suero, **187**
  funciones de, 78
  sérica, 79
Alimentación, 108
Almidón, 107
Amilasa, 108
Aminoácidos, 85
Aminotransferasas, 125
Amoniaco, 89, 91
Amplitud de distribución eritrocitaria, 66
Anemia(s), 47
  clases de, 48
  clasificación según el VCM, **49**
  diagnóstico por laboratorio clínico, 48
  ferropénica, 68
  hemolítica, 48
    diagnóstico, 49
  hipocrómica, 48, 49
  macrocítica, 48, **49**, 50
  microcítica, 48, 49
  normocítica, 48, **49**
  normocítica-normocrómica, 48
  normocrómica, 48
  policrómica, 48
  poshemorrágica, 68
  tipo de, 48
Anisocitosis, 50, 66
Antibiograma, 175
Anticoagulantes, 30
Anticuerpos, 75
Apilamiento de eritrocitos, 48
Apoferritina, 68
Apolipoproteínas, 98, 102
Apoproteínas, 98
  específicas, 100
Apoyo nutricional a corto plazo, 85
Artritis reumatoide, 70

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Aspartato aminotransferasa (AST), 120, 126
Aspiración suprapúbica, 174
Ayuno adecuado, 33
Azoemia, 90

B

Bacteriuria, 173
Balance nitrogenado, 84
Basófilo(s)
  cinética, 53
  función, 53
  morfología, 53
Bazo, 38
BH (biometría hemática), 63
Bilirrubina, 32, 43, 171
  directa, 45
    características de, 46
  en sangre, 45
    aumento de concentración, 45
  en suero, 46
  indirecta, 45
    características de, 47
  libre, 45
  medición de, 46
  urinaria, 47
Bilis humana, 46
Biometría hemática, 63, 71
Bioquímica clínica, 1, 119
Bolsa colectora, 174
BUN (nitrógeno de urea en sangre), 90, 92
Buretas, 6

C

Calcio, 139
  Control hormonal del, 139
  deficiencia de, 140
  fluorescente, 141
  ionizado en suero, **188**
  metabolismo del, *140*
  métodos de medición, 141
  total en suero, **188**
Calcitonina, 150
Calcitriol, 150
Candida albicus, 72
Candidina, 72
Capacidad total de fijación de hierro, 80
β-Caroteno, 147
Cateterismo, 174
Célula(s)
  aerobias, 43
  B, 55
  endoteliales, 81
  epiteliales, 173
  eritroide, 39
  fagocitarias, 72
  fagocíticas mononucleares, 54
  granulocítica, 39
  hematopoyéticas, 159
  madre, 38
    hematopoyéticas, 38
    pluripotencial, 39
  maduras, 38
  mieloide, 39
  monocítica, 39
  mucosas, 96
  NK *(natural killers)*, 57
  plaquetaria, 39
  precursoras, 38
  progenitoras, 38, 39
    eritroides (CFE-E), 39
  sanguíneas, 39
  "ste", 38
  T, 54, 55
Ceruloplasmina, 120, 144
Cetonas, 170
Cianocobalamina, 50, 159
Ciclo de Krebs, 107
Cinc, 146
Cinética, 57
  de neutrófilos, 52
Cistitis, 173
Cistoscopia, 174
Citoplasma, 51, 54
Citotoxicidad celular, 53
Citrato, 31
CMHC (concentración de hemoglobinacorpuscular), 66
Coagulación, 32
Coágulo, 32
Cobalamina, 92
Cobre, 144
  Métodos de medición, 144
Colesterol, 95
  cifras séricas de, 99
  niveles de, 99
  plasmático, 95
  total, 3, 101
Colinesterasa, 120
Compartimiento
  bipotencial, 38
  pluripotencial, 38
  terminal, 38
Concentración de hemoglobina corpuscular, 66
Corpúsculos de Howel-Jolly, 48
Corticosteroides, 109
Cortisol, 109
Creatina, 89, 92
Creatina-fosfocinasa (CPK), 120, 127
Creatinina, 3, 89, 92
  depuración de, 93
  en orina, **185**
  en suero y orina, **185**
  excreción de, 85
Cromatografía, 18, 101
  de alta resolución, 154
  de exclusión molecular, **20**, 21
  de intercambio iónico, 20
  en capa fina (CCF), 19
  fase estacionaria, 18
  fase móvil, 18
  HPLC, *22*
  líquida de alta resolución (HPLC), 21, 93
CTFH (capacidad total de fijación de hierro), 68, 80
Cubeta(s), 18
  de electroforesis, 23

D

Déficit proteínico-energético, 81
Densitometría, 24
Deshidrogenasa láctica, 124
Desnutrición
  grado de, **71**
  grave, **71**
  leve, **71**
  moderada, **71**
  prealbúmina y grado de, **80**

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

relación de linfocitos, **71**
transferrina y grado de, **80**
Detectores, 18
Diabetes
gestacional, 110
Inducida por drogas, 110
mellitus, 109
pancreática, 110
tipo 1, 110
tipo 2, 110
Diapédesis, 51
Dietoterapia, 82
Digestión, 108
absorción y transporte, 96
Dióxido de carbono, 43, 107
Disacáridos, 107
Dispensador, *6*
automáticos, 7
Displasia, 140

E

Ejercicio, **25**, 33
Electroforesis, 22, 77, 101, 124
de proteínas, 76
de zona, 23
libre, 23
Electrolitos, 1, 3
Elución, 23
Enfermedad infecciosa, 82
Enterobacter, 174
Enzima(s), 3
de interés clínico, 119
de la coagulación, 120
de secreción, 120
específicas del plasma, 120
no específicas del plasma, 120
utilizadas para evaluación clínica, 124
no funcionales del plasma, 130
que actúan sobre lipoproteínas, 99
Enzimas/isozimas, 130
Enzimología clínica, 119
Eosina, 52
Ergocalciferol, 149
Eritroblasto(s), 39, 48
basófilo, **42**
ortocromático, **42**
policromático, **42**
Eritrocito(s), 39, 41, 173
jóvenes, 75
maduros, 43
recuento de, 41
Eritropoyesis, 39, 166
eficaz, 41
Eritrosedimentación, 70
Errores
aleatorios, 7
de medida, 7
de método, 7
de muestreo, 7
humanos, 7
sistemáticos, 7
Escherichia coli, 174
Especificidad, 9
Espectofotómetro, 11
Espectro
de absorción, 14
electromagnético, 13
regiones del, **13**
Espectrofotometría, 64, 91
de absorción, 14
Espectrofotómetro, 16, 92
Esquema de la eritropoyesis en médula ósea, **42**
Esquitocitos, 48
Estado proteínico, 84
energético, 81
Estasis, 33
Estercobilina, 172
Estómago, 108
Estreptococo, 72
Estrés metabólico nutricional, 90
Estructura del grupo HEM, *44*
Estudio
de eritrocitos, 63
de orina 24 h, 34
del sedimento urinario, 172
Evaluación de función renal, 89
Exactitud analítica, 8
Examen
de urocultivo, 34
general de orina, 167
microscópico de orina, 174
Excreción de 3-metil histidina, 86

F

Factor
de crecimiento semejante a la insulina, 82
de necrosis tumoral (TNF), 82
de riesgo cardiovascular, **100**
estimulador de colonias (FEC), 53
quimiotáctico eosinófilo de anafilaxia, 53
Fármacos, 33
Femtolitros (fL), 64
Ferritina, 68
determinación de, 69
indicador de, 69
Fibrinógeno, 75
Fibronectina, 81
Filoquinona, 152
Filtros, 17
Fitonadiona, 152
Folato, 92
Fosfatasa, 128
ácida (ACP), 129
alcalina, 128, 150
Fosfato, 167
inorgánico, 141
Fosfolípidos, 96
Fósforo, 141
en suero, **188**
funciones, 141
método de medición, 141
orgánico, 141
Fotón, 12
Fructosa, 107
Fructosamina, 115
en suero, **188**
Fuente
de alimentación, 23
de energía radiante, 16, 17
Fuerza centrífuga relativa, 64
Función renal, 94

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

G

Galactosa, 107
Gamma
  globulinas, 75
  glutamiltransferasa, 129
Ganglios linfáticos, 38
Gestación, 37
GHB (hemoglobina glucosilada), **186**
Glicemia a corto plazo, 115
Globina, 43
Globulina, 75, 150
Glomérulo, 165
Glomerulonefritis, 173
Glomérulos, 89
Glucagón, 109
Glucógeno, 109
Glucogenólisis, 109
Glucómetro, *114*
Gluconeogénesis, 109, 166
Glucosa, 3, 107, 170
  en plasma, 112
    nivel posprandial, 112
  plasmática, **115**
  sanguínea, 108
Glucosa-6-fosfato, 107
Glucosuria, 116
Granulocito
  eosinófilo, 52
  neutrófilo (PMN), 51
Gránulos azurófilos, 51

H

Haz
  de energía, 15
  de luz, 13
HCM (hemoglobina corpuscular media), 65
HDL (lipoproteínas de alta densidad), 97
Hematócrito, 64, **181**
Hematología, 37
Hematopoyesis, 37
Hematuria, 173
Hemocromatosis, 144
Hemoglobina, 43, 63, 64, 75, 171, **182**
  catabolismo de, 43
  corpuscular media, 65, **183**
  glucosilada, 114, **186**
Hemólisis, 33
Hemosiderina, 69
Heparina, 31
Hexosas, 107
Hidratos carbono, metabolismo de, 107
Hidrólisis, 91
Hidrómetro, 168
Hierro, 63, 142, **184**
  capacidad total de fijación del, 68
  deficiencia de, 70, 144
  del organismo, 67
  excreción, 143
  fijación del, **184**
  hémico, 142
  indicadores de, 67
  Metabolismo del, 67, *143*
  no hémico, 142
  sérico, 68
  toxicidad, 144
Hígado, 38
Hipercolesterolemia, 100
Hiperglucemia, 109
Hiperqueratosis folicular, 148
Hipertrigliceridemia, 100
Hipoglucemia, 110
Hipoxia, 39
Histograma normal, *66*
Hormona(s)
  esteroideas, 95
  paratifoidea, 142
  paratiroidea, 150
  que elevan la concentración de glucosa, 109
  tiroxina, 80

I

Ictericia, 45
  hepática, 46
  posthepática, 46
  prehepática, 46
Indicadores
  bioquímicos, 3
  hematológicos, 63
Índice(s)
  aterogénicos, **103**
  creatinina /altura, 85
  creatinina/talla, 86
  eritrocitarios, 64
Infrarrojo (IR), **13**
Inmunidad, indicador de, 71
Inmunodifusión radial, 77
Insuficiencia nutricional, 63
Insulina, 109
  en plasma, 113
Interferencias analíticas, 9
Interleucina-1 (IL-1), 54
Intervalo analítico, 8
Isoalaxozina, 156

J

Jugo gástrico, 108

K

Katal, 124

L

Laboratorio clínico
  calidad analítica en, 7
  característicasanalíticas, 7
  instrumentos utilizados en, 11
  parámetros de funcionamiento analítico, 7
Lactato-deshidrogenasa (LDH), 120
Lactoferrina, 51
Lactosa, 107, 140
Lámpara ultravioleta fluorescente, 22
LCAT (lecitina-colesterol-aciltrasferasa), 99
LDL (lipoproteínas de baja densidad), 97
Lecitina-colesterol-aciltrasferasa, 99
Leucina-aminopeptidasa (LAP), 130
Leucocitos, 39, 173
  maduros en sangre, 50
Leucopoyesis, 50
Ley(es)
  de absorción, 14
  de Beer, 15

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

LHTG (lipasa hepática de triglicéridos), 99
Linealidad, 8
Linfocito(s)
B, 54, 56
CD8, 56
T, 53, 54
desarrollo de, 55
función de, 55
totales, 57
Lipasa, 96
hepática de triglicéridos, 99
Lipemia, 100
Lípido(s), 95, 95, 99
clasificación del ATP, **103**
del plasma humano, 95
medición en el laboratorio, 100
perfil de, 104
plasmáticos, 95, 95
tisulares, 151
transporte de, *98*
Lipólisis, 109
Lipoproteínas, 99
de alta densidad, 97
de baja densidad, 97
de muy baja densidad, 97
determinación de, 101
plasmáticas, 96
Lipoproteínas-lipasa, 97
Longitud de onda, 11
LPL (lipoproteínas-lipasa), 97
Luz
absorción y transmisión, 15
blanca se dispersa, 13
con la materia, 13
incidente, 15
proceso de absorción, 13
se absorbe, 13
se refleja, 13
visible, **13**

M

Macrófagos
cinética, 54
morfología, 54
Macronutrientes, 43
Magnesio, 142
deficiencia, 142
métodos de medición, 142
Maltosa, 107
Mastocito(s)
cinética, 53
función, 53
morfología, 53
Material(es)
para laboratorio, 3
porcelana, 4
utensilios de plástico, 4
vidrio, 3
volumétrico, 4
Matraz aforado, 5
Medición
de fosfatasa alcalina, 129
enzimática, 122
Médula
amarilla, 37
hematopoyética activa, 37
ósea, 37, 38
roja, 37
Melanina, 144
Metabolitos, 1
Metamielocito, 52
Metanol, 47
Metionina-S-adenosilmetionina-homocisteína, 92
Método(s)
cinético, 122
de Biuret, 76, 77
de ciano-metahemoglobina (HiCN), 64
de electroforesis, 102
de glucosa-deshidrogenasa, 111
de glucosa-oxidasa/peroxidasa, 111
de hexocinasa, 111
de Jaffé, 93
de punto final, 122
de ultracentrifugación, 102
del electrodo glucosa-oxidasa-oxígeno, 112
enzimáticos,
para glucosa, 111
para medición de colesterol tota, 101
Micción limpia, 174
Microalbuminuria, 116
Microcitosis, 50, 70
Micronutrientes, 139
Microondas, **13**
Micropipetas, 6
tipo Eppendorf, 6
Microproteinuria, 116
Mieloblastos, 52
Mielocitos, 52
Miligramos por decilitro, 2
Minerales, 139
Molécula del HEM, 43
Monitoreo de glucosa en sangre, 114
Monocito(s)
cinética, 54
morfología, 54
Monocromadores, 16, 18

N

Nefelometría, 77
Nefrona, 165
Neoplasias hepáticas, 130
Neutrófilos, 52
Niacina, 155
Nicotinamida, 155
Niños con kwashiorkor, 81
Nitrógeno
de amonio, 90
de urea, 3, **184**
en orina, 90
en sangre, 90
urinario total, 84
5'-nucleotidasa, 129
Nutrición parenteral, 80, 85
Nutriólogo, 85

O

Oficina nacional de patrones (ONP), 4
Oligoelementos, 139
Orina, 165
estudio básico de, 165, 165
general de, 34
recolección de,
manejo de muestras, **29**
muestras, 34

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Osteomalacia, 140, 150
Osteoporosis, 150
Oxalato, 167
de amonio, 31
Oxidasa, 150

P

Paciente diabético, 107
control del, 107
pruebas diagnósticas, 107
Patrón electroforético, **77**
normal, *24*
C-Péptido del plasma, 113
Pielonefritis, 173
Pipetas, 5
aforadas, 5
graduadas, 5
volumétricas, 5
Piridoxina, 157
Piridoxoamina, 157
Plaquetas, 39, 57
Plasma, 30
obtención de, 30
sanguíneo, 75, 165
Poiquilocitosis, 48, 50
Polimialgia reumática, 70
Polisacáridos, 107
Prealbúmina, 80, **186**
en suero, **186**
rica en triptófano, **186**
Precipitación en polianión, 101
Precisión analítica, 7
Procedimientos inmunoquímicos, 101
Proeritroblasto, **42**
Promielocitos, 52
Propiedades de la partícula, 12
Prostatitis, 173
Proteína(s), 43, 75
alimentaria, 84
C reactiva, 81, 82
de fase aguda positiva, 81
en el adulto, 76
plasmáticas, 75
somática, 84, 87
totales, 3, 76, **187**
en suero, 76
transportadora de retinol, 80
visceral, 77, 81
indicadores, 77
Proteinograma electroforético, **24**
Proteólisis, 109
Protoporfirina, 70
eritrocítica, 70
Provitamina D3, 149
Prueba(s)
de control del paciente diabético, 114
de fructosamina, 115
de tolerancia a la glucosa, **186**
oral, 112
diagnósticas, **107**
física de la orina, 167
para diagnóstico de diabetes, 110
Pseudomona aeruginosa, 174
Psicosis de Wernicke-Korsakoff, 154
PT (proteínas plasmáticas), 75
Punción
arterial, 30
venosa, 29
Punteado basófilo, 48

Q

Quilomicrones, 96, 101

R

Radiación(es)
electromagnéticas, 11
ultravioleta (UV), 11
Raquitismo, 150
Rayos
gamma, **13**
X, **13**
Reacción de hipersensibilidad cutánea retardada, 71
Recuperación, 9
Refracción, 13
Registro, 18
Relación BUN/creatinina, 93
Rendijas, 17
Representación
de curvas de glucemia e insulinemia, *112*
de eritropoyesis, *41*
de exactitud y precisión, *8*
de longitud de onda, *12*
de una curva de calibración, *9*
Reticulocito, 41, **42**
Retinol, 80, 147, 148
Riboflavina, 156
fórmula estructural de, *156*
Riesgo cardiovascular, **103**
Riñón, 165
filtración glomerular, 166
funcionamiento del, 165
reabsorción tubular, 166
secreción tubular, 166

S

Sacarosa, 107
Sales biliares, 96
Sangre, **29**
almacenamiento de, 33
completa, 30
centrifugada, *30*
componentes de, *31*
obtención de, 30
de suero, 32
recipiente de recolección, 32
recolección y manejo de muestras, **29**
Selenio, 145
deficiencia, 145
métodos de medición, 145
toxicidad, 145
Sensibilidad analítica, 8
límite de detección analíticos, 8
Sensor de oxígeno, 39
Seudocolinesterasa, 120
SI (sistema internacional de unidades), 2
Sistema(s)
de vacío, 32
hematopoyético, 38
inmunitario en trasplantes, 55

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

internacional de unidades, 1, 2
múltiplos y submúltiplos en, 2
unidades más utilizadas, **2**
métrico decimal, 1
mononuclear fagocítico, 38
nervioso central, 109
reticuloendotelial, 43, 52
vascular, 30
Sondaje vesical, 174
Streptococcus fecalis, 174
Sustancias bioquímicas, formas de expresar concentración, 2

T

Tabaquismo, 33
Técnicas de Kjeldahl, 84
Tejido
adiposo, 109
hematopoyético, 30, 38
insulino-dependiente, 109
Tetrahidrofolato (THF), 50, 158
Tiamina, 154
Timo, 38, 55
Timopoyetina, 55
Timosina, 55
Tiras reactivas para uroanálisis, *169*
Trampa de tetrahidrofolatos, *160*
Transaminasas, 125
Transferrina, 79, **184**
en suero, **184**, **187**
Transmitancia, 15
Transtirretina, **186**
Trastornos
de causas posrenales, 90
De causas prerrenales, 90
de causas renales, 90
Traumatismo agudo, 82
Triacilglicéridos, 109
Triacilglicerol, 95
Triglicéridos, 3, 95, 101
cifras séricas de, 99
Trombocitos, 57
Tuberculina, 72
Tuberculosis, 70
Tubos de vacío y su aplicación, **31**

U

Ultracentrifugación, 101
Ultravioleta (UV), **13**
Umbral renal para glucosa, 170
Unidades formadoras
de colonias eosinófilas (UFC-EO), 53
de colonias eritroides (CFU-E), 39
eritroides explosivas (BFU-E), 39
Urea, 85, 89
medición de, 90
Uretritis, 173
Urinómetro, 168
Urobilinógeno, 45, 172
fecal, 47
urinario, 47
Urocultivo, 34, 174

V

Valores bioquímicos, 181
Vasos sanguíneos, 30
VCM (volumen corpuscular medio), 47, 64
Velocidad de sedimentación globular, 70
Vida embrionaria, 37
Vitamina(s), 139
A, 147
B_1, 154
B_2, 156
B_6, 157
B_{12}, 41, 159
C, 153
D, 147, 148
E, 151
hidrosolubles, 153
K, 147, 152
liposolubles, 146
mediciones bioquímicas, 147
VLDL (lipoproteínas de muy baja densi-dad), 97
Volumen corpuscular medio, 47, 64, **183**
VSG (velocidad de sedimentación globu-lar), 70
valores de referencia, **71**

© Editorial El Manual Moderno Fotocopiar sin autorización es un delito.

Esta obra ha sido publicada por
Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.
y se han terminado los trabajos de esta
primera edición
el 30 de abril de 2012
en los talleres de
Grafiscanner ADISA
Bolívar 455-C,
Col. Obrera, 09700, México, D.F.

1a. edición, 2012

•